الفصل الثاني

بعض الأجهزة والأدوات المعملية
وأسس استخدامها

فيما يلي عرض مبسط لبعض الأجهزة والأدوات المعملية مع الإشارة إلى الأسس النظرية والعملية لاستخدامها .

١ـ الميزان Balance :

الاستعمال الصحيح للميزان هو الوسيلة الأكيدة للوزن الدقيق ، ولتحقيق ذلك يلزم اتباع الآتي :

١ ـ تخصص حجرة للموازين بعيدة عن التيارات الهوائية ، أو على الأقل في المعمل بعيدة عن الشبابيك أو الأبواب أو الأفران ، وعلى ألا توضع على منضدة بل على رف رخام مثبت في الحائط لتلافي أثر الاهتزازات والذبذبات الأرضية .

٢ ـ تنظيف الميزان قبل وبعد استعماله بفرشاة خاصة لإزالة الأتربة أو بقايا العينات المتناثرة .

٣ ـ غطاء الميزان بعد استعماله لإبعاده عن الأتربة .

٤ ـ ضبط الوضع الأفقي للميزان بالميزان المائي .

٥ ـ ضبط نقطة الصفر للميزان (الذي لا يضبط أوتوماتيكيا أي ذاتيا) .

٦ ـ بعد ضبط الميزان وتنظيفه يقفل بابه (أو أبوابه) باستمرار أثناء الوزن .

٧ ـ الموازين ذات الصنج لا تمسك صنجها باليد ، بل بالماسك الخاص ، تلافيا لأثر اليد الملوثة بالأتربة والعرق والدهون .

٨ ـ عدم الوزن والأواني أو العينة ساخنة أو حتى دافئة .

٩ ـ إدارة مفاتيح الميزان (سواء للضبط أو للوزن) بلطف حتى لا تتآكل المناشير التي يرتكز عليها القب أو الروافع .

١٠ـ يدون الوزن حسب الدقة المطلوبة ، أو حسب أهمية الأرقام ، وعادة تدون لرابع رقم عشري .

١١ـ الوزن بسرعة قدر الإمكان كي لا تتغير الوزنة بتراكم الرطوبة الجوية عليها .

١٢ـ حمولة ودقة الميزان ونسبة الخطأ فيه تتوقف على نوع الميزان وحساسيته .

وقد شملت التكنولوجيا العصرية كذلك الموازين ، وأصبح الميزان ذو القب والكفتان تقريباً غير مستعمل ؛ لانتشار الموازين الكهربائية ذات الحمولات والحساسيات المختلفة ، حتى أصبح أوتوماتيكياً كاملاً فتضع العينة يظهر الوزن مباشرة (أو بمجرد الضغط على زر) في ظرف ٢ ثانية، بل لقد أمكن تركيب أجهزة تجفيف (تعمل بالأشعة تحت الحمراء) على بعض الموديلات من الموازين ليعمل كميزان وفرن تجفيف ، فيقدر المحتوى المائي أو الوزن الجاف والفقد في الوزن في زمن قدره ٤–١٥ دقيقة .

وقمة التطور في استخدام الموازين تظهر في المصانع المختلفة إذ تتصل بكومبيوترات لتسجيل الأوزان وحفظها ، أو تتصل بمستودعات وسيور متحركة وأجهزة طبع بيانات وتغليف ، كما في مصانع الجبن والمعلبات والمجازر ومصانع الأعلاف وغيرها كثيراً .

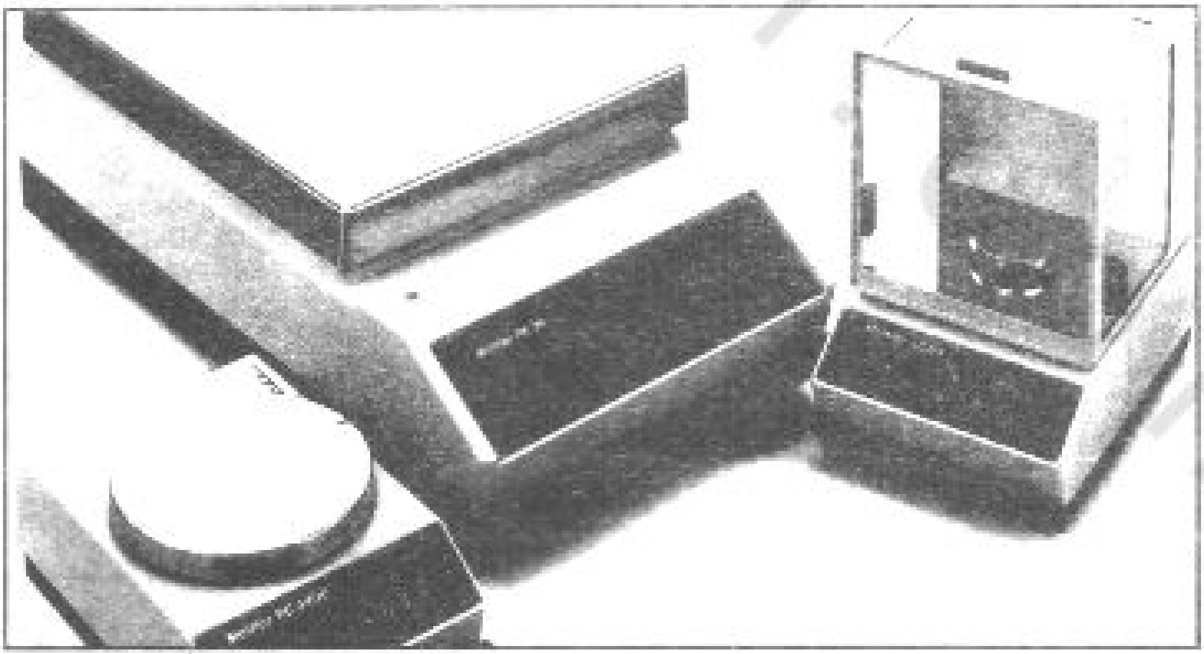
وهناك موازين دقيقة Micro Balance قد يكون حدها الأقصى ٢٥جم أو حتى ٣جم ، إلا أنه هناك موازين أقل دقة وحد الوزن الأقصى عليها ١٠٠٠جم أو حتى ٣٠كيلو ، ولا يجب وضع الأجسام التي ستوزن على الكفة مباشرة إلا إذا كانت معدنية أو زجاجية أو صينية ، أما ما دون ذلك فتوضع في زجاجة ساعة أو طبق ، كما يجب أن تكون درجة حرارة الأجسام الموزونه مساوية لدرجة حرارة الغرفة فإذا زادت حرارتها تواجد تيار هواء من أسفل لأعلى حول الكفة ويقل وزنها عن الحقيقة ، والعكس عندما تكون حرارتها منخفضة، إضافة الأوزان الأكبر أولاً، إضافة الأوزان والقب ثابت إذا كانت الأوزان أكبر من ١,٠جم.

وتتصل الموازين الآن في المعامل بغيرها من الأجهزة لتتم عدة عمليات معملية فى آن واحد فبجانب الوزن يجرى التجفيف أو التقليب أو المعايرة أو الحساب والعد وخلافها .

ومن أشهر شركات الموازين فى العالم شركة Mettler الدولية الانتشار ، ومقرها بزيورخ بسويسرا وفروعها بألمانيا وهولندا والولايات المتحدة ، وكذلك شركة Sartorius الألمانية الغربية، وفروعها فى هولندا وفرنسا والنمسا والمملكة المتحدة والولايات المتحدة .

وتتوقف دقة الميزان على حمولته ، وفيما يلى أمثلة لذلك (بما فيها الموازين فوق الدقيقة) :

حمولة الميزان بالجرام	حساسيته (دقته)	معدل الخطأ في القراءة
٣	٠,١–١ ميكرو جرام	± ٠,١ إلى ١ ميكرو جرام
٤,١	١ ميكرو جرام	± ١ ميكرو جرام
٢٥	١–١٠ ميكرو جرام	± ١ إلى ١٠ ميكرو جرام
٣٠	١ ميكرو جرام	± ٠,٠٠١ مجم
٨٠	٠,١ مجم	± ٠,٠٠٠١ مجم
١٦٠	١٠–١٠٠٠ ميكرو جرام	± ٥٠–٥٠٠ ميكرو جرام
٢٠٠	٠,١–١٠ مجم	± ٠,٠٥ مجم إلى ± ١٠ مجم
٤٠٠	١ مجم	± ١ مجم
١٠٠٠	٠,٠١ جم إلى ٠,١ جم	± ٥ إلى ١٠٠ مجم
٢٠٠٠	٠,١ جم	± ١٠٠ مجم
٣٠٠٠	٠,٠١ جم	± ١٠ مجم
٤٠٠٠	٠,١ جم	± ٥٠ مجم
٥٠٠٠	٠,١ جم	± ٥٠ مجم
٦٠٠٠	٠,٥ جم	± ٢٥٠ مجم
٧٠٠٠	٠,١ جم	± ١٠٠ مجم
١٠٠٠٠	١ جم	± ٠,٥ جم
١٥٠٠٠	١ جم	± ٠,٥ جم
٣٠٠٠٠	١ جم	± ٠,٥ جم



(شكل ١) نماذج لموازين مختلفة الحمولة والدقة (٠,١ جم – ٠,١ مجم)

وهناك موازين تقرأ حتى حساسية خامس رقم عشرى من الجرام (× $١٠^{-٥}$جم) أى ١٠ ميكرو جرام .

٢ ـ الدورق المعياري Volumetric Flask :

هو أحد الأواني القياسية Measuring Vessels ذو قاعدة مستوية ، طويل العنق ، مدون على جسمه بيان بالحجم الذي يسعه الدورق حتى العلامة التي على عنقه إن وجدت ، وذلك في درجة حرارة معينة ، وتختلف حجوم الدوارق المعيارية من ١٠ ملليلتر إلى ٥ لتر وقد يكون لها غطاء .

ولاستعمال الدورق المعيارى لتحضير تركيز معين من محلول ما ، تذاب المادة الموزونة أولاً فى كأس أو زجاجة ساعة ، ثم تنقل كميا بالمذيب المستخدم إلى الدورق حتى قبل العلامة التي على العنق بمسافة ٢–٣سم^{٣} ، ثم يكمل حتى العلامة بالمذيب باستخدام ماصة لتلافى الزيادة فى حجم المحلول عن علامة الدورق ، ثم يرج جيداً بعد سده بالغطاء الخاص . ومنه الزجاجي القياسي ومنه البلاستك .

٣ ـ المخبار المدرج Measuring Cylinder :

أنبوبة زجاجية أو بلاستيكية واسعة مدرجة ذات قاعدة زجاجية سميكة ، ويستخدم فى أخذ الحجوم التقريبية أو حفظها وتختلف حجوم المخابير من ٥سم^{٣} إلى ٢لتر ، ومنها ماله فوهة ضيقة ذات سدادة ومنها مدرجا ، ودقة المخبار تنحصر ما بين ٠,١ إلى ٢٠,٠مل ، ومعامل الخطأ فى القراءة ينحصر ما بين ٠,١–٢٠,٠مل كذلك .

٤ ـ الماصة Pipette :

أنابيب ذات نوعين هما :

أ ـ ماصة ناقلة Transfer Pipette ذات انتفاخ ، مدون عليها بيان بحجم السائل الذي يملؤها حتى العلامة الموجودة على الطرف غير المدبب عند درجة حرارة معينة ، ومنها سعات مختلفة تبدأ من ١مل إلى ١٠٠مل .

ب ـ ماصة قياسية Measuring Pipette ذات تدريج خارجي من القمة إلى القاعدة ، وذات أحجام مختلفة لأخذ أحجام مختلفة من المحاليل حسب الرغبة ، ومنها ما يكون تدريجه بالميكرو لتر أو بالملليلتر أي تبدأ سعتها من ١٠ ميكرو لتر (وتسمى بالماصة الميكرو لترية) أي ٠,٠١مل إلى ٢٥مل بدقة قياس ٠,٠٠٠١–٠,١مل . وهناك الماصة الأوتوماتيك ذات الحجوم المتغايرة الميكروليترية أو الملليلترية .

ملاحظات على استخدام الماصة :

١ ـ لا يفضل سحب المحاليل بالمص ، بل تستخدم مساعدات الماصة (من مضخات

كاوتشوك ماصة كابسة) التي تركب على الطرف الغير مدبب للماصة أو تستخدم الماصات النصف أوتوماتك أو الأوتوماتك .

٢ ـ عدم استعمال الفم في ملء الماصة بالمحاليل السامة أو الملتهبة أو الكاوية .

٣ ـ لا يستعمل الشفط القوي Vigorous Sucking لتلافي تكوين الفقاعات الهوائية ، وعدم النفخ لتلافي دخول اللعاب .

٤ ـ عند تفريغ الماصة لابد من وضعها في وضع مائل ، حتى ينزل المحلول منها بسرعة معقولة ، على أن يلامس طرفها المدبب لجدار الوعاء الداخلي .

٥ ـ عند ملء الماصة تملأ أولاً لأعلى من التدريج أو العلامة العلوية بقليل ، ثم تسد الفتحة العليا (في حالة عدم استخدام مساعدات الماصة) بالسبابة مع مسك الماصة بالإبهام والوسطى ، ثم يجفف الطرف السفلي من الخارج بقماش أو ورق ترشيح ، ويحرك السبابة ببطء ، واحترس حتى ينزل المحلول للعلامة . تحفظ الماصة عند عدم استعمالها بعد غسيلها في وضع أفقي كي لا يخدش طرفها .

٦ ـ الماصة تعطي الحجم المدون عليها مع مراعاة عدم تفريغ النقطة الأخيرة بالنفخ .

٧ ـ لابد من أن يكون السبابة الذي يسد الماصة جاف حتى يمكن التحكم في ضبط حجم المحلول بالماصة بتحريك السبابة ببطء للأمام والخلف (أو إلى الجانبين أحياناً ـ إن كانت السبابة مبتلة ـ أو دوران الماصة تحت السبابة) .

٨ ـ قبل استعمال الماصة تغسل بالماء العادي ثم بالماء المقطر ثم بالمحلول المراد استخدامه، ويقرأ الحجم عند الخط المماس للسطح المقعر من السائل عديم اللون (أو الخط المماس للسطح العلوي من السائل الملون) مع أخذ القراءة والماصة في مستوى أفقي مع النظر . كسر الطرف المدبب للماصة يفقدها تمام التحكم في إنزال حجم معين منها .

٩ ـ معامل الخطأ في قراءة الماصة ما بين ± ٠,٠٠٢ و ± ٠,١ مل .

٥ ـ السحاحة Burette :

أنبوبة مدرجة من القمة إلى القاعدة ، مع وجود اختناق في القاعدة وتنتهي بصنبور زجاجي أو خرطوم كاوتشوك بمحبس ، ومنها أحجام مختلفة من ١-١٠٠ مل ، مع تقسيم كل مل إلى عشرة أقسام كل منها ٠,٠١-٠,٢ مل حسب الحجم الكلي .

ملاحظات على استعمال السحاحة :

١ ـ تحفظ السحاحة في وضع رأسي عند استخدامها .

٢ ـ تملأ بواسطة قمع صغير إلى ما فوق أعلى التدريج بقليل ، ثم يفتح الصنبور لطرد فقاعات الهواء أسفل الصنبور ، على أن يكون الجزء التالي للصنبور مملوءاً تماماً بالمحلول ،

ثم يفتح الصنبور تدريجياً لضبط سطح المحلول عند التدريج العلوي بالضبط .

٣ ـ ينزع القمع مباشرة عقب ملء السحاحة – أي لا يعاير في وجود القمع – أو يضبط حجم المحلول بالسحاحة في وجود القمع .

٤ ـ تمسح السحاحة ويقرأ حجم المحلول بها ، كما سبق ذكره في الماصة .

٥ ـ يراعى عدم وجود أي تنقيط من صنبور السحاحة قبل استعمالها .

٦ ـ في حالة وجود فقاعة هواء عند وصلة الكاوتشوك يثنى الجزء الكاوتشوكي إلى أعلى ، مع السماح للسائل بالنزول والخرطوم مرفوع لأعلى فيساعد على خروج الفقاعة .

٧ ـ هناك سحاحة أوتوماتيكية يمكن ملؤها أولاً بأول عند إفراغها لاتصالها بخزان ملىء بالمحلول ، وهذا في حالة استعمالها لمحلول معين دوما .

٨ ـ بعد انتهاء العمل بالسحاحة وغسيلها جيداً توضع مقلوبة على حاملها ؛ لتلافي تتريب سطحها الداخلي . معامل الخطأ لقراءة السحاحة يقع ما بين ± ٠,٠١ إلى ±١٥ ,مل.

٦ ـ الدورق المخروطي Conical Flask :

دورق مخروطي الشكل ومنه أحجام مختلفة من ٢٥ مل إلى ٥ لتر ، ومنه ماهو مدرج لأحجام بينية ، ومنه ما له سدادة مصنفرة (غطاء) ، وهو يغسل بالماء العادي ثم الماء المقطر ولا يغسل بالمحلول الذي سيوضع به كي لا يتأثر حجم المحلول إذا ما استخدم في المعايرة .

٧ ـ المجفف Desiccator :

يستعمل في حفظ الأدوات المستخدمة في الوزن ، وكذلك في حفظ العينات وخلافها، ثابتة الوزن ، ويبعدها عن الرطوبة الجوية التي تغلف كل شيء في الجو ، وتختلف من وقت لآخر ومن مكان لآخر ، فتختلف بالتالي الأوزان لهذه الأشياء من وقت لآخر ، مالم تكن محفوظة في المجفف . والمجفف حيز مغلق محكم خال من الرطوبة الجوية لوجود مادة تمتص الرطوبة أولاً بأول توضع بقاع المجفف ، ومن هذه المواد المجففة كلوريد الكالسيوم وهي الأكثر انتشاراً واستخداماً ، كما قد تستعمل كبريتات النحاس أو السليكاجيل .

وتستعمل المجففات كذلك لحفظ الأدوات الخارجة من الأفران لتبرد قبل وزنها بعيداً عن الرطوبة الجوية ، وفي استعمالها للأدوات الساخنة التي تسبب تمدد هواء المجفف فيؤدى ذلك إلى طرد غطاء المجفف ، وإذا ترك المجفف مفتوحاً فترة لتمدد الهواء ثم غلق بعد ذلك ؛ فإن انكماش هواء المجفف نتيجة تبريد الأجسام داخله يؤدي إلى زيادة الضغط الجوي خارج المجفف عن الضغط داخله فيصعب فتح المجفف ، وعند فتحه بشدة يندفع

التيار الهوائي داخل المجفف بقوة مما يسبب تطاير ما قد يكون بالمجفف من عينات فيسبب خطأً كبيراً ، لذلك تستعمل المجففات التي يكون بغطائها فتحة عليها صنبور يمكن بواسطته طرد الهواء المتمدد، وكذلك بواسطته يعادل الضغط خارج وداخل المجفف، أو تغطى الأشياء الساخنة في المجفف قبل الغلق إذا كانت تحتوي على عينات يخشى تناثرها بفعل تيارات الهواء التي تحدث داخل المجفف عند فتحه .

ومن المجففات أقطار وأحجام وأشكال متباينة ، وما له فتحة بغطاء أو بدون ، وماله صنبور علوي أو جانبي ، وما يمكن احتماله للحرارة في حمام مائي أو زيتي ، وما يتحمل التفريغ إلى غير ذلك . والحجم الأكثر شيوعاً هو ماله عنق مقاس ٣٢/٢٩م وارتفاع جسمه ١٨٠م وقطره الداخلي ٢٤٥م وارتفاعه بدون السدادة ٢٧٠م .

وكما سبق الذكر فأكثر المواد المجففة (المستخدمة في المجففات) انتشاراً هي كلوريد الكالسيوم (4-8 mesh) ، إلا أن حمض الكبريتيك المركز أفضل ولكنه خطر في تداوله ، كما تستخدم السليكاجيل مع دليل لإيضاح احتياجها لإعادة التنشيط ، وهي مفضلة الاستخدام إلا أن الأكثر كفاءة هي بيركلورات الماغنسيوم وكذلك خماسي أكسيد الفوسفور (فسفور بنتوكسيد) وكبريتات النحاس اللامائية .

ومن كبرى الشركات العالمية التي تنتشر منتجاتها الزجاجية في بقاع الأرض جميعها هي شركة JENA^{ER} للزجاجات المعدنية ، وتنتشر منتجاتها تحت أسماء تجارية ، منها Jena Glas, Duran, Supremax, Fiolax, Duroplan, Verdura, AR-Glas, Durobax وجميعها علامات تجارية لشركة Jena Glaswerk Schott & Gen., Mainz في ماينز بألمانيا الغربية ، وتمتاز منتجاتها بثبات صفاتها الطبيعية والكيماوية ، ولها علامات مميزة على منتجاتها تشير لمقاومتها لكيماويات معينة أو عدم مقاومتها ، وذلك على درجات حرارة معينة ، كما أن لكل منتج مواصفات أخرى مثل السمك والقطر والسعة والطول والعنق ... إلخ .

وفيما يلي السعات (الحجوم) المختلفة لبعض منتجاتها الزجاجية بالملليتر :

دورق مستدير القاعدة	دورق مخروطي مدرج	كأس فليب بمصب	كأس ترشيح سميك الجدران بمصب	كأس للصبغات سميك الجدران	كأس مدرّج بدون مصب	كأس مدرّج بمصب
٥٠مل	٢٥ مل	١٥٠ مل	٢٥٠مل	١٠٠مل	٥٠ مل	٥ مل غير مدرّج
١٠٠مل	٥٠ مل	٢٥٠ مل	٥٠٠مل	٢٥٠مل	١٠٠ مل	١٠ مل غير مدرّج
٢٥٠مل	١٠٠ مل	٥٠٠ مل	١٠٠٠مل	٥٠٠مل	١٥٠ مل	٢٥ مل
٥٠٠مل	٢٠٠ مل		٢٠٠٠مل	١٠٠٠مل	٢٥٠ مل	٥٠ مل
١٠٠٠مل	٢٥٠ مل		٣٠٠٠مل		٤٠٠ مل	١٠٠ مل
٢٠٠٠مل	٣٠٠ مل		٥٠٠٠مل		٦٠٠ مل	١٥٠ مل
٣٠٠٠مل	٥٠٠ مل		١٠٠٠٠مل		١٠٠٠مل	٢٥٠ مل
٤٠٠٠مل	١٠٠٠مل		١٥٠٠٠مل			٤٠٠ مل
٦٠٠٠مل	٢٠٠٠مل		٢٠٠٠٠مل			٦٠٠ مل
١٠٠٠٠مل	٣٠٠٠مل					٨٠٠ مل
٢٠٠٠٠مل	٥٠٠٠مل					١٠٠٠ مل
						٢٠٠٠ مل
						٣٠٠٠ مل
						٥٠٠٠ مل
						١٠٠٠٠ مل غير مدرّج

دورق كلداهل	دورق مسطح القاعدة	قمع قطر حافته	زجاجات محاليل	بوتقة بمصب قطر حافتها
٥٠ مل	٥٠ مل	٣٥ مم	٥٠ مل	٤٠ مم
١٠٠ مل	١٠٠ مل	٤٥ مم	١٠٠ مل	٥٠ مم
٢٥٠ مل	٢٥٠ مل	٥٥ مم	٢٥٠ مل	٦٠ مم
٥٠٠ مل	٥٠٠ مل	٧٠ مم	٥٠٠ مل	٧٠ مم
٧٥٠ مل	١٠٠٠ مل	٨٠ مم	١٠٠٠ مل	٨٠ مم
١٠٠٠ مل	٢٠٠٠ مل	١٠٠ مم	٢٠٠٠ مل	٩٥ مم
	٤٠٠٠ مل	١٥٠ مم	٥٠٠٠ مل	١١٥ مم
	٦٠٠٠ مل	٢٠٠ مم	١٠٠٠٠ مل	١٤٠ مم
	١٠٠٠٠ مل	٣٠٠ مم	٢٠٠٠٠ مل	١٩٠ مم
				٢٣٠ مم

obeikandi.com

أنابيب اختبار	أنابيب طرد مركزي	دورق معياري	مخبار	سحاحة	ماصة
قطر × طول	قطر × ارتفاع	١٠ مل	١٠ مل	١ مل	٠,١ مل
١٦ × ١٦٠ مم	٨ × ٧٠ مم	٢٠ مل	٢٥ مل	٢ مل	٠,٢ مل
١٨ × ١٨٠ مم	١٠ × ٧٥ مم	٢٥ مل	٥٠ مل	٥ مل	٠,٥ مل
٢٠ × ١٨٠ مم	١٠ × ١٠٠ مم	٥٠ مل	١٠٠ مل	١٠ مل	١ مل
٢٥ × ١٥٠ مم	١٠ × ٧٥ مم	١٠٠ مل	٢٥٠ مل	٢٥ مل	٢ مل
٢٥ × ٢٠٠ مم	١٢ × ١٠٠ مم	٢٠٠ مل	٥٠٠ مل	٥٠ مل	٥ مل
٣٠ × ٢٠٠ مم	١٦ × ١٠٠ مم	٢٥٠ مل	١٠٠٠ مل	١٠٠ مل	١٠ مل
	٢٤ × ١٠٠ مم	٥٠٠ مل	٢٠٠٠ مل		٢٥ مل
	٣٤ × ١٠٠ مم	١٠٠٠ مل			٥٠ مل
	٤٠ × ١١٥ مم	٢٠٠٠ مل			١٠٠ مل
	٤٤ × ١٠٠ مم	٥٠٠٠ مل			
	٥٦ × ٤٧ مم				

وعند استخدام أدوات قياس الحجم يستعمل المخبار لأحجام المحاليل التي لا يلزم أخذها بدقة شديدة (وقد يستعمل الكأس المدرج أو الدورق المخروطي المدرج) على أن يوضع على سطح مستو ثابت ، بحيث يكون سطح المحلول عند القراءة في مستوى العين . أما الماصة غير المدرجة فتستعمل في أخذ حجوم معينة بالضبط ، والماصة المدرجة كالسحاحة ، تستعمل لقياس أحجام أقل من سعتها الكلية أو لقياس أجزاء من الملليلتر .

ونظرا لأن العين تخطئ عادة في قراءة سطوح المحاليل بقدر متباين على حسب قطر السحاحة أو خلافها (حوالي ± ٠,٠٤ مل في المتوسط عندما يكون قطر السحاحة ١ سم) فإن استعمال المحاليل المخففة يقلل من نسبة هذا الخطأ عما لو استعملت المحاليل المركزة ، فإذا استخدمنا سحاحة قطرها ١ سم لمحلول بدم كب أي ٠,١ ع ، فإن الخطأ يقدر بحوالي (٤٩ × $\frac{١}{٢٠}$ × $\frac{١}{١٠٠٠}$ × $\frac{٤}{٢٠٠}$ =) ٠,٠٠٠١٩٦ جم أو ما يوازي ٠,٢ مجم ، أما لو استخدم حمض الكبريتيك الأساسي ، فيكون خطأ العين عشرة أضعاف ما سبق حسابه (٤٩ × $\frac{١}{١٠٠٠}$ × $\frac{٤}{٢٠٠}$ =) ٠,٠٠١٩٦ جم أو ما يوازى ٢,٠ مجم .

٨ ـ القمع وورق الترشيح Filter Papers & Funnel :

للترشيح الدقيق الكامل تراعى الاعتبارات القادمة :

١ ـ اختيار ورق الترشيح المناسب لحجم القمع (زجاجي أو بلاستك) .

٢ ـ نوع ورق الترشيح يجب أن يتناسب مع حجم حبيبات الراسب والغرض من الترشيح ، هل هو سرعة الترشيح أو دقة الفصل .

٣ ـ إجراء الترشيح بطريقة Decanting (لضمان سهولة غسل الرواسب) بنقل السائل لورق الترشيح أولاً يليه الراسب .

فورقة الترشيح المناسبة للقمع هي التي بعد وضعها في القمع يترك بين حافتها وحافة القمع حوالي ٢ سم ، وينبغي ألا يرتفع سطح المحلول المضاف بحيث يترك حوالى ٢ سم من حافة الورقة ، مع تبليل القمع أولاً قبل وضع الورق فيه لتنطبق جيداً على سطح القمع الداخلي فيسهل الترشيح .

ويختلف ورق الترشيح كثيراً في وزن المتر منه وفي سمكه وفي مقاساته وتشربه ومسامه وسرعة الترشيح خلاله واحتوائه على رماد ونوع الرماد ونعومته ، وعليه فيتوقف تحديد نوع ورق الترشيح على نوع التحليل إن كان كمياً أو نوعياً ، وكذلك على التقديرات المختلفة والمحاليل المستخدمة وغير ذلك .

٩ ـ أجهزة قياس الكثافة والوزن النوعي :

ومن بينها مثلاً قنينة الكثافة Pycnometer وميزان وستفال Westphal Balance والهيدرومترات Hydrometers وفي الجهازين الأولين تقارن أوزان حجوم متساوية من السائل والماء على درجة حرارة معينة ، وفي الهيدرو مترات تقارن نسب حجوم الأوزان المتساوية . وهناك هيدرو مترات خاصة تعطي قراءات أخرى كالبومية Baume ، ومن درجات البومية يستنتج الوزن النوعي . والوزن النوعي هو نسبة وزن حجم معين من المادة عند درجة حرارة معينة ووزن نفس الحجم من الماء على درجة حرارة ٤ م .

١٠ ـ قياس اللزوجة :

هي المقاومة الناتجة عن احتكاك داخلي تبذله المواد اللزجة لقوى تغير شكلها ، أى أنها مقاومة الانسياب أو السيولة . وتقاس اللزوجة بالبويز Poise وهي وحدة مطلقة للزوجة ، وهي عبارة عن القوة التى إذا ما وقعت على وحدة المساحة بين مستويين متوازيين مساحة كل منها ١ سم^{٢} ويبعدان عن بعضهما ١ سم ، تحدث اختلافاً فى سرعة الانسياب بين المستويين مقدارها ١ سم فى الثانية .

وعادة تقدر اللزوجة النسبية للمواد أي بالنسبة لمواد قياسية كالماء (لزوجته المطلقة ١,٠٠٥ سنتيبويز عند ٢٠°م) وتتشابه اللزوجة النسبية واللزوجة المطلقة إذا ما عبر عنهما بالسنتيبويز (٠,٠١ من البويز) . وتقدر عادة اللزوجة لمنتجات النشا اللزجة والزيوت والدهون باستخدام أجهزة قياس اللزوجة مثل جهاز اسطوالد Ostwald وجهاز ماك مايكل وجهاز هوبلر Hppler ، والأول زجاجي مكون من أنبوبة شعرية (وتتوقف معاملات اللزوجة على قطر الأنبوبة وقوة دفع السائل والزمن اللازم لهبوطه وطول الأنبوبة الشعرية ، وكثافة السائل وعجلة الجاذبية) ، والثاني يعتمد على اللف للوعاء الذي به العينة التي يسقط فيها

obeikandi.com

غاطس بزنبرك ، فيقاس مدى الالتواء المعرض له الزنبرك نتيجة لزوجة المادة اللفافة ، ويعرف هذا الجهاز بجهاز ماك مايكل الزنبركي للزوجة Mac Micheal Torsion Viscosimeter .
بينما الجهاز الأخير ذو كرة معلومة الأبعاد يقاس الزمن اللازم كي تقطع مسافة معينة داخل السائل المختبر ، وتؤخذ اللزوجة كمقياس للنشاط الإنزيمي المحلل (المؤدي لخفض اللزوجة) كما أنها تستخدم في تقدير نسبة الرطوبة في بعض المركبات .

١١ ـ أجهزة الطرد المركزي Centrifuges :

وهي متعددة الأحجام والسرعات والكفاءات والأغراض (حسب قطر الحبيبات وصلابتها) ، فمنها ما يستخدم لفصل الغازات ، أو نزع الغازات ، أو للاستخلاص ، أو للفصل بدرجاته ، أو للترسيب ، أو للترشيح ، أو الغربلة ، وعلى ذلك تختلف سرعاتها وقوة مواتيرها ويتم حساب معامل سرعتها (ع) بمعلومية نصف قطر الأذرع (r) وسرعة زواياها (W) وسرعة الأرض (g) (٩,٨١ م/ث٢) من المعادلة $\frac{r \cdot w^2}{g}$ = ع .

وهي تتراوح من ٣٠٠ (لأجهزة الطرد المركزي الغربلي أو الترشيحي) إلى ٦١٠ (لأجهزة الطرد المركزي العالية Ultracentri fuges) ، وتستخدم في المعامل والمصانع سواء في مصانع الألبان ، أو الزيوت ، أو الصناعات القائمة على الدم والمستحضرات الطبية وخلافها . أما الأجهزة المعملية فمنها ما يعمل على تيار ١١٠ أو ٢٢٠ فولت وأقصى سرعة لها تتفاوت ، فمنها ما تصل إلى ٣١٠٠ لفة / دقيقة وحتى ١٢ ألف لفة / دقيقة وأكثر .

(شكل ٢) نماذج لبعض أجهزة الطرد المركزي المعملية

١٢ ـ قياس PH :

هناك طريقتان لقياس قيمة PH السوائل ، وهما : إما طريقة كهربية Electrometric أو طريقة لونية Colorimetric بمساعدة أدلة ، والطريقة الأولى هي الأدق لكنها مكلفة ، أما الطريقة الثانية فتتوقف على استخدام ورق ترشيح مشرب بالدليل ، أو خليط الأدلة الملونة الذي يرتبط بالورق بروابط اشتراكية على السليلوز ، أو محاليل الدلائل ، والعينات التي تحتاج وقتاً طويلاً (أكثر من ١٥ دقيقة) حتى يتحول لون ورق PH معها تحتاج لتقدير حموضتها ، إما بسوائل أدلة بدلاً من الورق أو باستخدام الطريقة الكهربية .

وورق PH الحديث يعطي فروقاً لونية عند درجات PH المختلفة (وكسور الدرجات) مما يسهل القراءة ، كما أن منه ما يقيس حموضة الخبز واللحم والزيت ويقيس في السوائل الملونة والعكرة ، ومنها ما يقيس من PH صفر إلى ١٤ أو من صفر-٦ ، ٥-١٠ ، ٧,٥-١٤ بدقة ٠,٥ درجة ، أو يقيس من PH صفر-٢,٥ ، ٢,٥-٤,٥ ، ٤-٧ ، ٦,٥-١٠ ، ١١-١٣ بدقة ٠,٢-٠,٣ درجة أو ٥,٢-٧,٢ بدقة ٠,١-٠,٣ درجة أو ١-١٠ ، صفر-١٤ بدقة وحدة واحدة ، وخلاف ذلك كثير ، في صورة شرائط أو لفافات بدليل ألوان أو بدون ، أما السائل فمنه ما يقيس PH ٤,٥-٩,٠ بدقة ٠,٥ وحدة أو صفر-٥ ، ٤-١٠ ، ٩-١٣ مع دليل ألوان .

ويؤثر بالخطأ فى القياس اللونى للحموضة وجود كل من الأملاح المتعادلة ، الحرارة ، البروتينات ، قلويدات ، المذيبات العضوية وغيرها ، وذلك لأن الأدلة تركيبها الكيماوي إما أحماض أو قواعد عضوية ضعيفة التأين ، فبالتالي تتأثر درجة توزيعها على أجزاء المحلول بالعوامل المذكورة آنفاً (والدلائل تعمل كحامضية أو كقاعدية حسب رقم حموضة الوسط الموجودة به) ولون الجزيئات غير المتأنية للدليل يختلف عن لون أيوناتها ، وعليه فيختلف لون الدليل باختلاف PH الوسط .

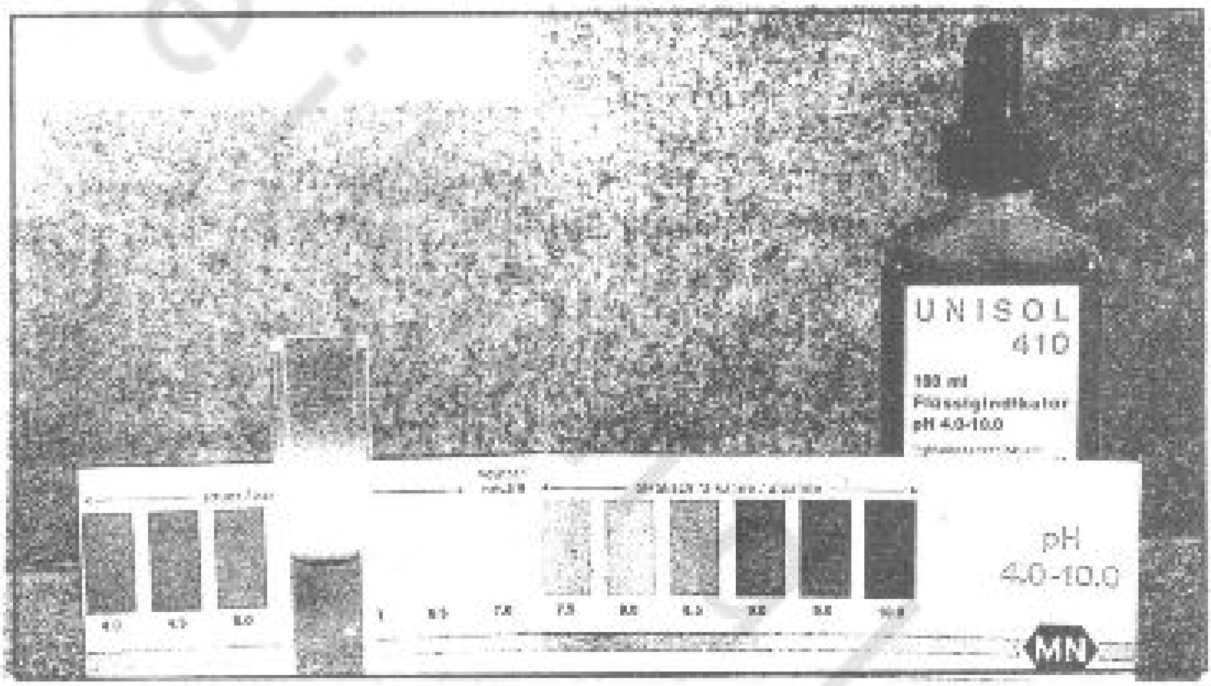
وهناك طرق لونية قديمة كطريقة La Motte ، وطريقة Hellige يتم فيها تجريب عدة أدلة حتى تصل للدليل المناسب ، ويقارن اللون فيها بأنابيب مقارنة أو زجاج ملون باستخدام صندوق خاص .

عند قياس PH بالأجهزة الكهربائية في عينة ، فإن كانت سائلة عادية تقاس فيها مباشرة، وإن كانت عالية اللزوجة تخفف ٥٠ ٪ ، وإن كانت مسحوقاً تخفف أو تعلق ٢٥ ٪، وإن كانت غير ذائبة ترج نصف ساعة قبل القياس .

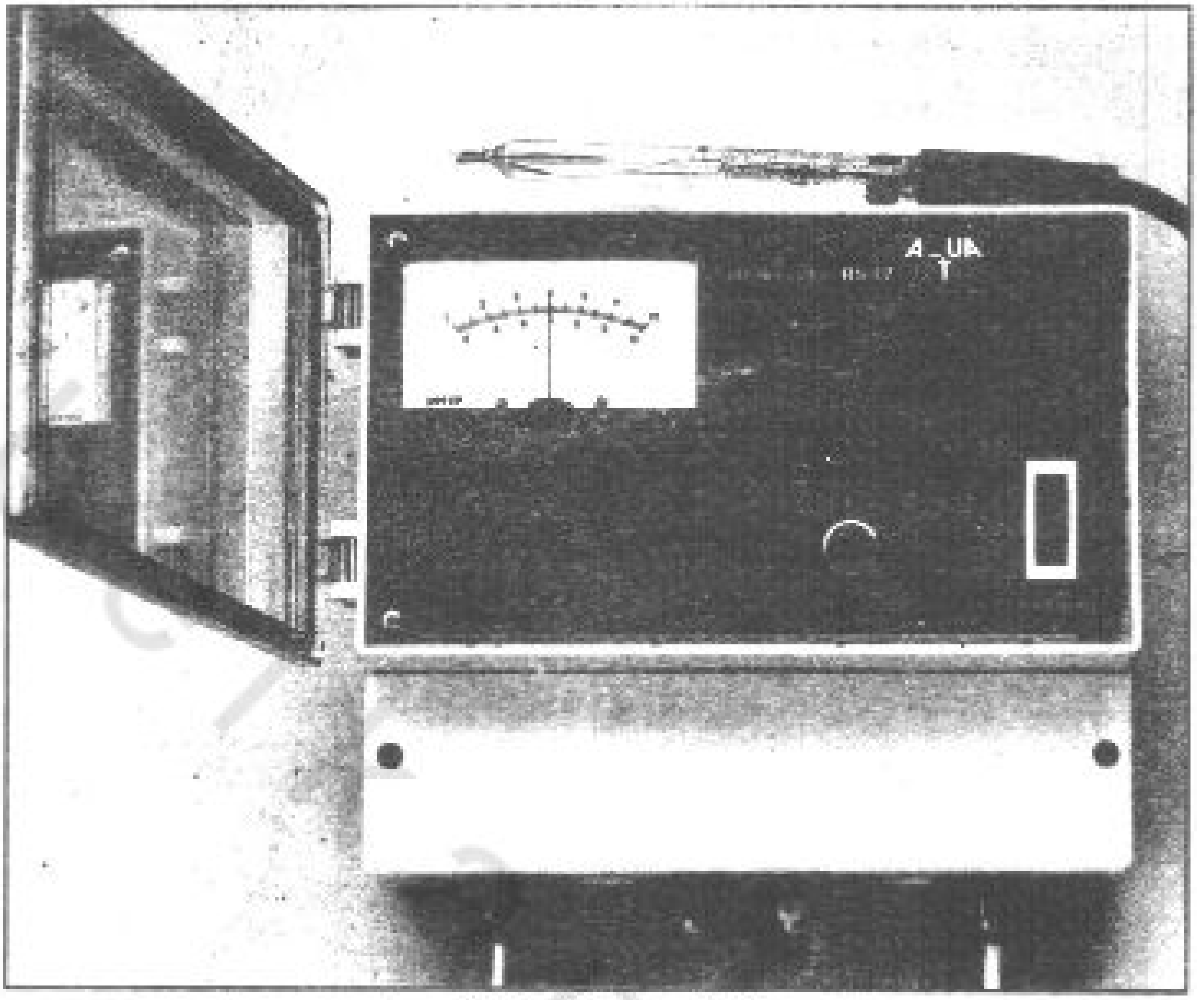
تعاير دقة الجهاز بمحلولين منظمين مختلفين فى رقم الحموضة ، مع غسيل الالكترود بالماء المقطر عقب كل قياس . أفضل ظروف جوية للقياس ٢٠-٤٠ ٪ رطوبة نسبية على درجات الحرارة الطبيعية ؛ على الرطوبة المنخفضة تسبب الشحنات الاستاتيكية عدم ثبات

القراءة ، كما أن ارتفاع الرطوبة يؤدي لامتصاصها مما يؤدي لتسرب كهربي شديد ، ومعظم أجهزة PH لا تعمل على رطوبة نسبية أعلى من ٩٠٪ على ٢٥°م ، وأفضل هذه الأجهزة حساسية ما كان يتأثر منها بشدة بالرطوبة .

يمكن تنظيف الالكترود بغمسه في حمض HCl مخفف ، ثم الغسيل بالماء المقطر ، ويمكن مسحه برفق بنسيج ناعم ممتص . يراقب عدم دخول الهواء في الدائرة الكهربية عند إلكترود كالومل بانخفاض مستوى كلوريد البوتاسيوم في القنطرة الملحية ، فيمكن إزالة الفقاعة الهوائية بتسخين الإلكترود في ماء دافئ أو بالتفريغ الهادى لفراغ القنطرة الملحية .



دليل سائل لقياس PH المحاليل لونيا



(شكل ٣) جهاز قياس PH كهربيا

رقم الحموضة **PH** هو عبارة عن اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الأيدروجين ، وإن كان صعباً قياس تركيز أيون الأيدروجين ، فيعبر عنه حديثاً بالنشاط الأيوني ، وهو لا يقاس مباشرة بل عن طريق خواص المحاليل ، كضغط البخار ، والانخفاض فى درجة التجميد ، أو الارتفاع فى درجة الغليان ، أو التوصيل الكهربي ، وهي نتيجة تركيز ونشاط الأيونات والظواهر الديناميكية الحرارية في المحلول ، وتقارن الحموضات باستعمال القوة الأسية Ion-exponent وهي القيمة الدالة على قوة الأس exponent الذي يجب رفع ١٠ إليه ليساوى تركيز أيون الأيدروجين بدون العلامة السالبة .

ويتراوح التركيز التقريبي لأيونات الأيدروجين في الأغذية من $١٠^{-٧}$ إلى $١٠^{-٢}$ جزيء/لتر (ماء إلى منتجات حامضية) ، واستعمال النشاط الأيوني هو أساس تقدير رقم الحموضة بالطريقة الكهربية الدقيقة ، أي أن الفرق بين رقمين للحموضة هو فرق فى جهد مقاسا بواسطة Galvanic Cell ، واصطلح على أن القوة الدافعة الكهربائية لخلية تحتوي محلول كلوريدي ذا تركيز جزيئي مقداره ١ هو مقياس أولي رمزي .

ولضبط أجهزة قياس رقم الحموضة PH-meters تستعمل محاليل منظمة Buffer Solutions ، وهي المحاليل التي لها فعل منظم Buffer action ، أي مقاوم للتغيير في رقم الحموضة الذي يحدث في المحلول عندما يتعرض لزيادة أو فقد للحامض أو القلوي ، وأكثر المحاليل المنظمة كفاءة عبارة عن مخاليط من أحماض ضعيفة أو قواعد ضعيفة وأملاحها ، وذلك راجع إلى الدرجة البسيطة التي تتأين بها الأحماض والقواعد الضعيفة بمقارنتها بالأحماض والقواعد القوية التي تتأين كلية تقريباً .

وتحضر المحاليل المنظمة من أملاح معاد بلورتها Recrystalized معروفة التركيب ، بإذابتها في ماء معاد تقطيره Redistiled Water ، وتخفف تخفيفاً صحيحاً لتكون مضبوطة ودقيقة معلومة رقم الحموضة ، ويزداد الفعل المنظم أو القوة المنظمة للمحاليل المنظمة بزيادة تركيزها .

رقم الحموضة (PH) هو ـ كما ذكر ـ عبارة عن اللوغاريتم السالب لتركيز أيون الأيدروجين فمنه يمكن استنتاج تركيز أيون الأيدروجين (H^+) كالتالي :

$$PH = -\log(H^+) \qquad or \qquad (H^+) = 10^{-PH}$$

فارتفاع رقم الحموضة دليل انخفاض تركيز أيون الأيدروجين وارتفاع تركيز أيون الهيدروكسيل للعلاقة العكسية بين الأيونين .

ورقم الحموضة يحدد مدى انتشار الكائنات الحية الدقيقة خاصة البكتريا ، فهي الأكثر حساسية لأيونات الأيدروجين عن الخميرة والفطر ، كما يؤثر تركيز أيون الأيدروجين كذلك على النشاط الإنزيمي حتى يزداد الفناء البكتيري والإنزيمي بارتفاع الحرارة على وجه الخصوص ، عند زيادة تركيز أيونات الأيدروجين .

ويتوقف القياس الكهربي الدقيق لرقم الحموضة على أساس قياس فرق الجهد الكهربي بالمليفولت ، باستخدام أقطاب متباينة منها ما هو هيدروجيني ، كالوميل ، كوينهدرون ، زجاجي .

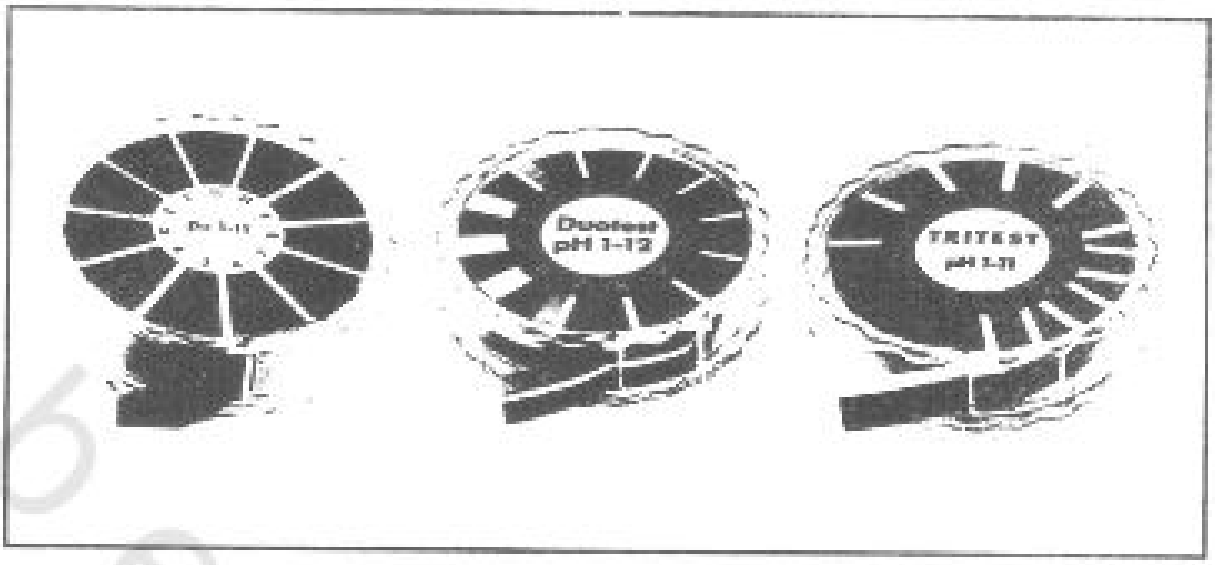
والقطب (الالكترود) الزجاجي هو الأكثر استخداماً ، وهو أنبوبة طرفها ينتهي بفقاعة من الزجاج الغني بالجير الصودي ، تحتوي محلول معلوم رقم حموضته ومغموس فيه قطب يعطي فرقاً ثابتاً في الجهد Constant Potential Differences ، ويغمس هذا القطب في المحلول المراد قياس رقم حموضته ، ويكمل التوصيل الكهربي ، والقطب الزجاجي أفضل من الأيدروجيني ، إذ يستخدم في أنظمة الأكسدة والاختزال والمحاليل غير المنظمة إلا أنه سهل الكسر ، بينما القطب الأيدروجيني لا يستعمل مع المواد الرغوية أو المؤكسدة أو المولدة للغازات أو المسببة للرغاوي أو غير المنظمة أو المواد المختزلة القوية .

ووصلت هذه الأجهزة من الدقة وصغر الحجم ما يجعلها شائعة الاستعمال ، فمنها ما

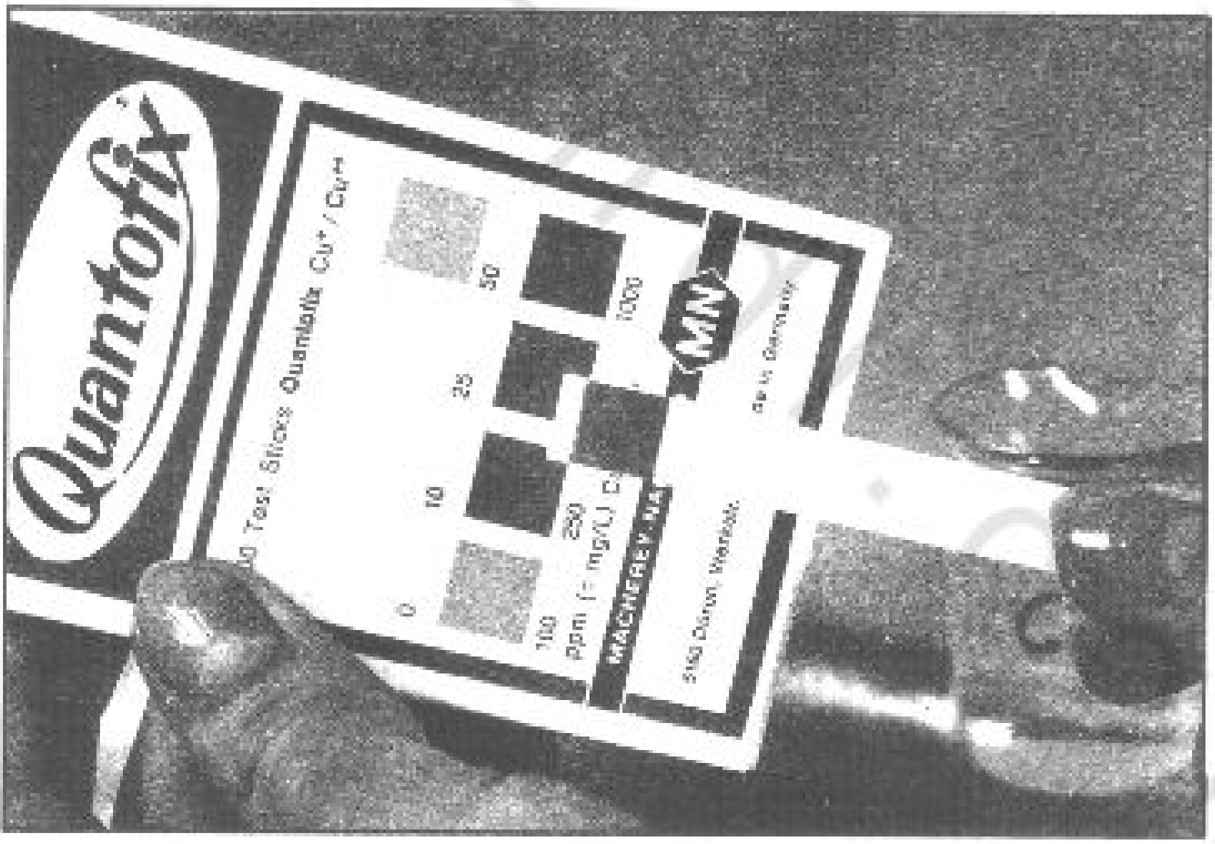
يعمل بالكهرباء أو بالبطارية ، وبلغت دقتها حدا كبيراً ، فالانحراف في القراءة يبلغ ± PH ٠,٠٠٥ ، وتقيس في درجات حرارة صفر–١٠٠°م في المحاليل وعلى حرارة غرفة صفر–٥٥م، وبلغت من صغر الحجم الكثير (١٠×٥×١٧سم) والوزن كذلك (٠,٣٨ كجم) .

١٣ ـ ورق الاختبار Test Papers :

تطورت صناعة ورق الاختبارات ، وزاد انتشاره لزيادة مجالات استخدامه ودقة قياساته ، فهناك لفافات بطول ٥م على بكر بلاستك مزودة بمقياس مدرج بالألوان وبعرض ١ سم لقياس مدى معين من درجة الحموضة ، أو لقياس بدقة متفاوتة (بتقدير نصف كمي) لمكونات المستخلصات المائية (حديد أو فلوريد أو نيتريت أو بوتاسيوم أو كوبلت أو نحاس أو ألومونيوم أو كرومات أو عسر الماء أو النيكل أو البيروكسيد أو الكبريتيد أو الزنك أو القصدير أو الزرنيخ أو الزئبق) ، كما استغلت أوراق الاختبار في تقدير الرطوبة النسبية للجو ، وفي الفحص لالتهاب الضرع في الحيوانات ، أو الكشف عن الزيت وخلاف ذلك كثير ، كما يستخدم في اختبار وظائف الأعضاء كما في تحليل البول من خلال الكشف عن نواتج الميتابوليزم من إنزيمات وصبغات وسكر وأملاح وهيموجلوبين وغيره .



ورق احتبار لتقدير PH



(شكل ٤) استخدام ورق الاختبار فى تقدير النحاس فى الماء

١٤ ـ قياس الحرارة :

تتم بترمومترات عادية ، سواء مئوية أو فهرنهيتيه ، والحديث هو وجود أجهزة جيب بسيطة ، تعمل بالبطارية ، سهلة الشحن ، تقيس من − ٤٠ إلى + ١٤٠ْم تظهر على شاشة رقمية أوتوماتيكيًا عند حس الأجسام بمقدم ساق من الصلب ، وإجمالي حجم الجهاز ٧٩×١٥٥× ٣٨م . بل الأحدث أجهزة أخرى تقيس الحرارة بدون ملامسة ، بل بواسطة الأشعة تحت الحمراء ، وتقيس في مدى من −٢٠ إلى +١٧٠٠ْم ، وتظهر كذلك القراءة على شاشة رقمية في ظرف ثوان ، وعلى بعد مريح من العينة ، وهو جهاز صغير سهل الحمل يعمل بالبطارية ووزن ٠,٩ كجم ، وقد تظهر القراءة في جزء من الثانية وبواسطة مؤشر وتدريج ، والجهاز شبيه بالمسدس في الشكل .

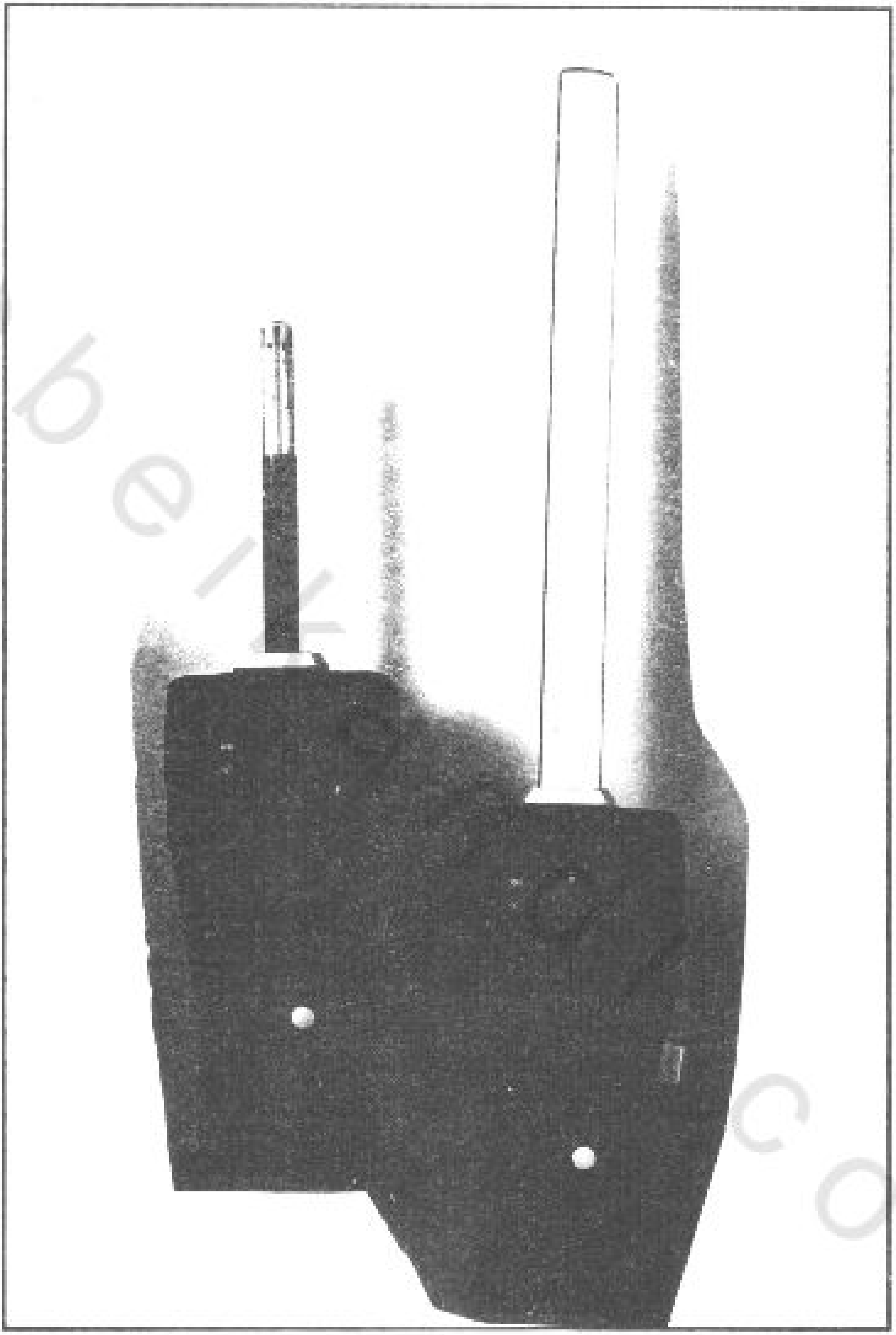
١٥ ـ قياس الرطوبة :

يعرف نشاط الماء Water Activity (aw) أو رطوبة الاتزان (100 aw) في مادة هيجروسكوبية ، بأنها درجة حرية الماء الموجود بها . ونشاط الماء هذا يعطي فكرة مباشرة عن ثبات المادة طبيعيًا ، ميكانيكيًا ، كيماويًا ، ميكروبيولوجيا ، كما يعطي فكرة عن العمليات المتداخلة مثل السيولة أو التكتل ، أو الكهرباء الاستاتيكية وغيرها في هذه المادة .

وعمليا يتم تقدير درجة الرطوبة في المواد الهيجروسكوبية معبرًا عنها في صورة نسبة مئوية للماء ، ويمكن نظريًا الربط بين المحتوى المائي ونشاط الماء والعكس ، وإن كان الواقع العملي يحتم معاملتهما منفصلين تمامًا عن بعض ، كما أنهما ليسا متساويين إذ أن المحتوى الرطوبي نسبة مئوية للماء الموجود منسوبًا للمادة الجافة أو الرطبة ، بينما نشاط الماء يقدر كالتالي :

$$aw = p/ps$$

opelkadl.com



(شكل ٥) أجهزة لقياس كل من الرطوبة النسبية ودرجة الحرارة

حيث P = ضغط بخار الماء خارج سطح المادة

P_S = ضغط بخار الماء خارج سطح ماء نقي على نفس درجة حرارة المادة

$$\%GF = 100\ aw$$

حيث $GF\%$ = رطوبة الاتزان

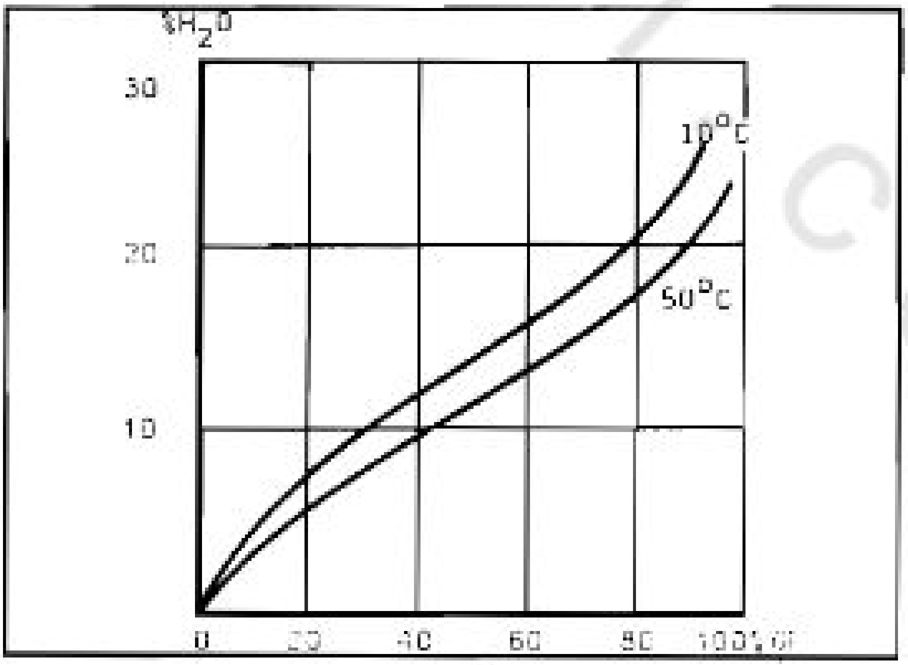
وبتقدير aw يمكن التنبؤ بأي الكائنات الحية يمكن تواجدها في هذه المادة .

وقد نشرت FDA هذه الحدود التي منها مايلي :

aw المثلى للنمو	الكائن الحي الموجود على هذه الـ aw
٠,٩١ – ٠,٩٥	معظم البكتيريا
٠,٨٨	معظم الخمائر
٠,٨٠	معظم فطريات العفن

فزيادة aw تزيد من أثر تفاعل Mailiard - Reaction حتى aw = ٠,٦ –٠,٧ ثم بعد وصوله للحد الأقصى ينخفض سريعاً ، كما تتوقف مدة حفظ المواد الغذائية على قيمة aw التي تؤثر على تغيير لون الكاروتين ، وأكسدة الميوجلوبين في اللحم ، وأكسدة البروتينات والفيتامينات وتفاعلات التلون الغير إنزيمية .

كما أن انخفاض aw عن ٠,٨ يعلوع من التفاعلات الإنزيمية وبانخفاض aw يرتبط الماء أكثر بالمادة ، ويحتاج إلى حرارة أكبر لفقده عند التجفيف ، فهناك علاقة طردية بين المحتوى المائي والاتزان المائي تتضح من الرسم التالي :

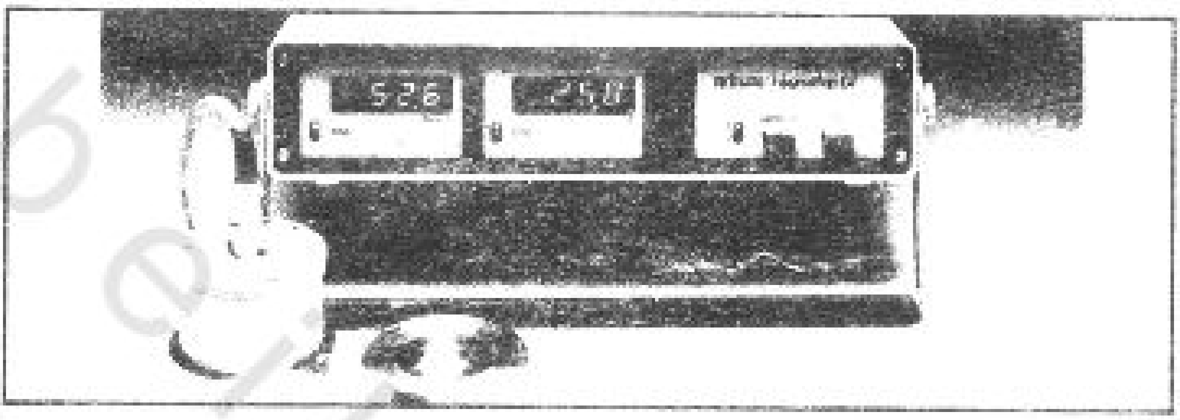


(شكل ٦)

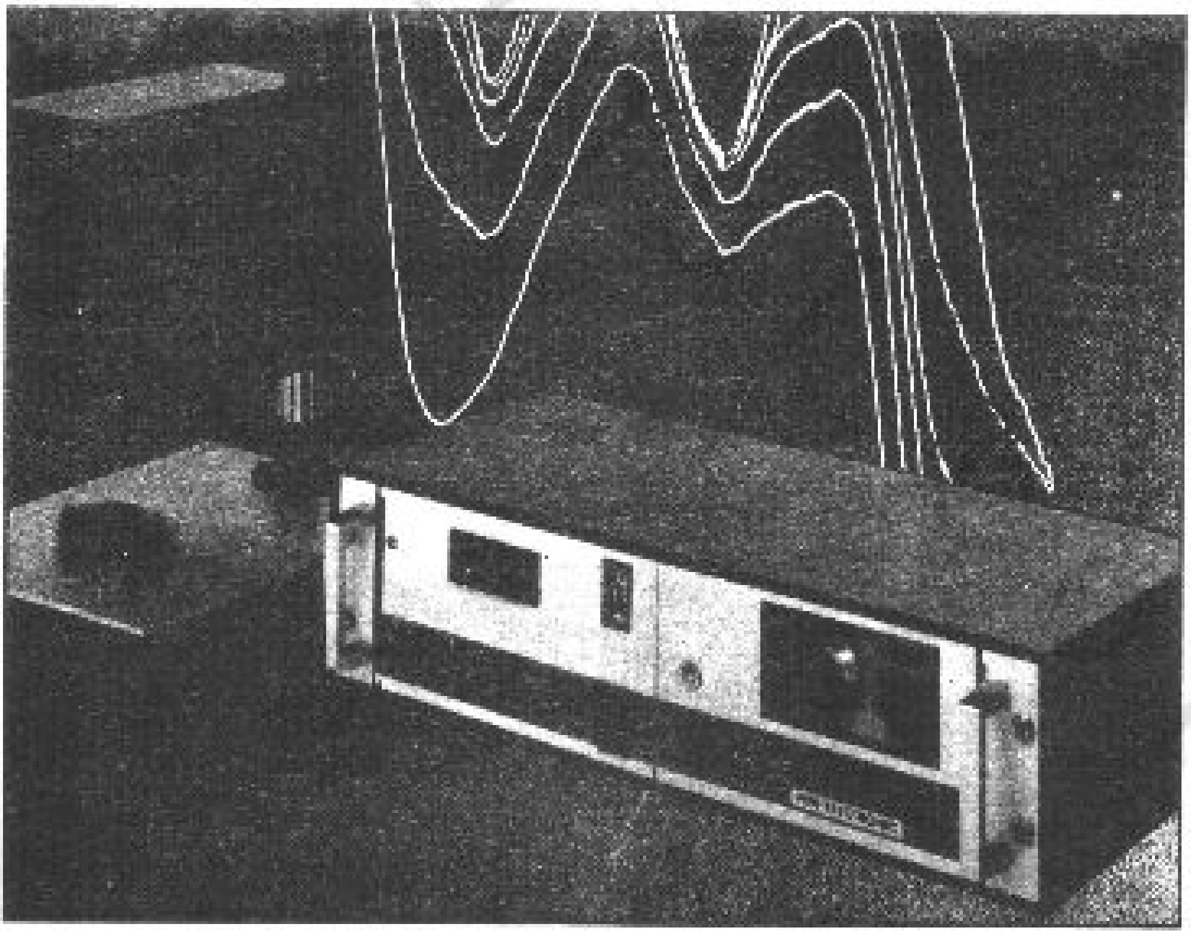
ويعرف نشاط الماء أو الرطوبة الاتزانية النسبية بأنها النسبة المئوية للرطوبة النسبية (RH%) الناتجة بالاتزان مع العينة في نظام مغلق على حرارة ثابتة .

$$\%RH = 100 \times aw$$

وعليه فيمكن قياس aw بمجس يقيس الرطوبة النسبية (تحت الظروف سابقة الذكر) .



هيجرو سكوب لقياس الرطوبة والنشاط المائي

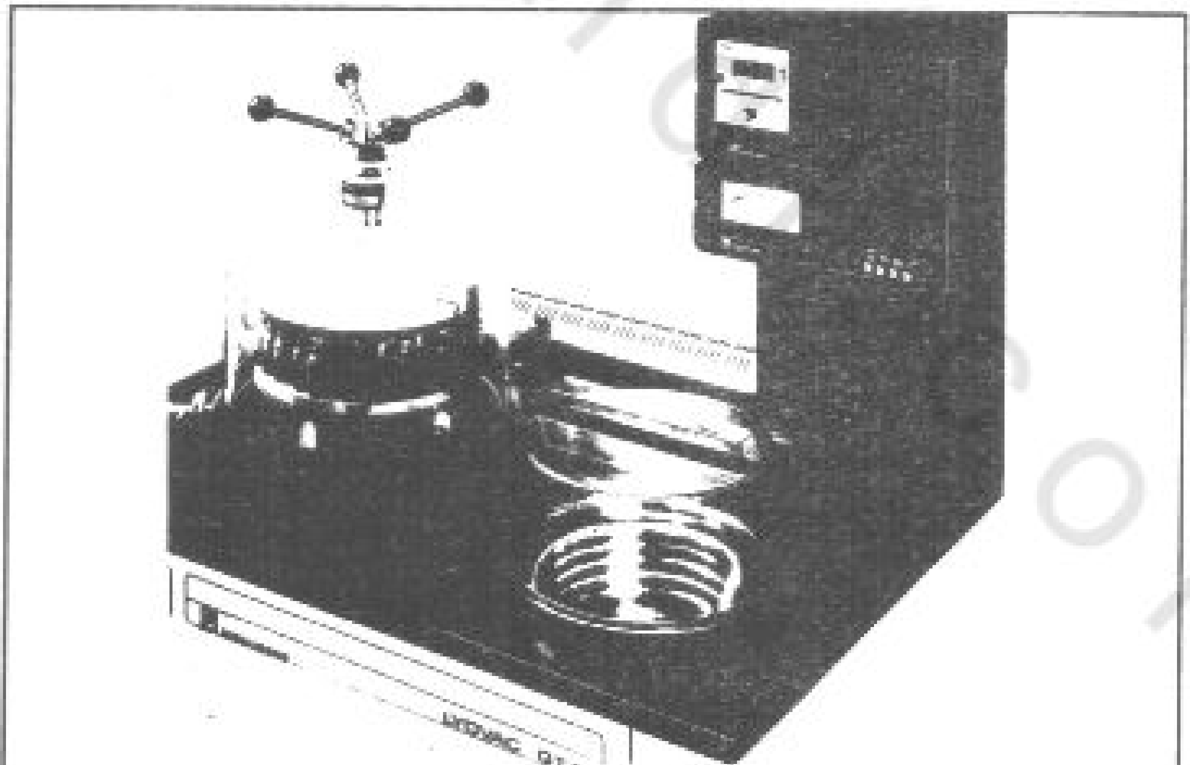


(شكل ٧) جهاز قياس انعكاس ضوئي لتقدير الرطوبة ضوئياً

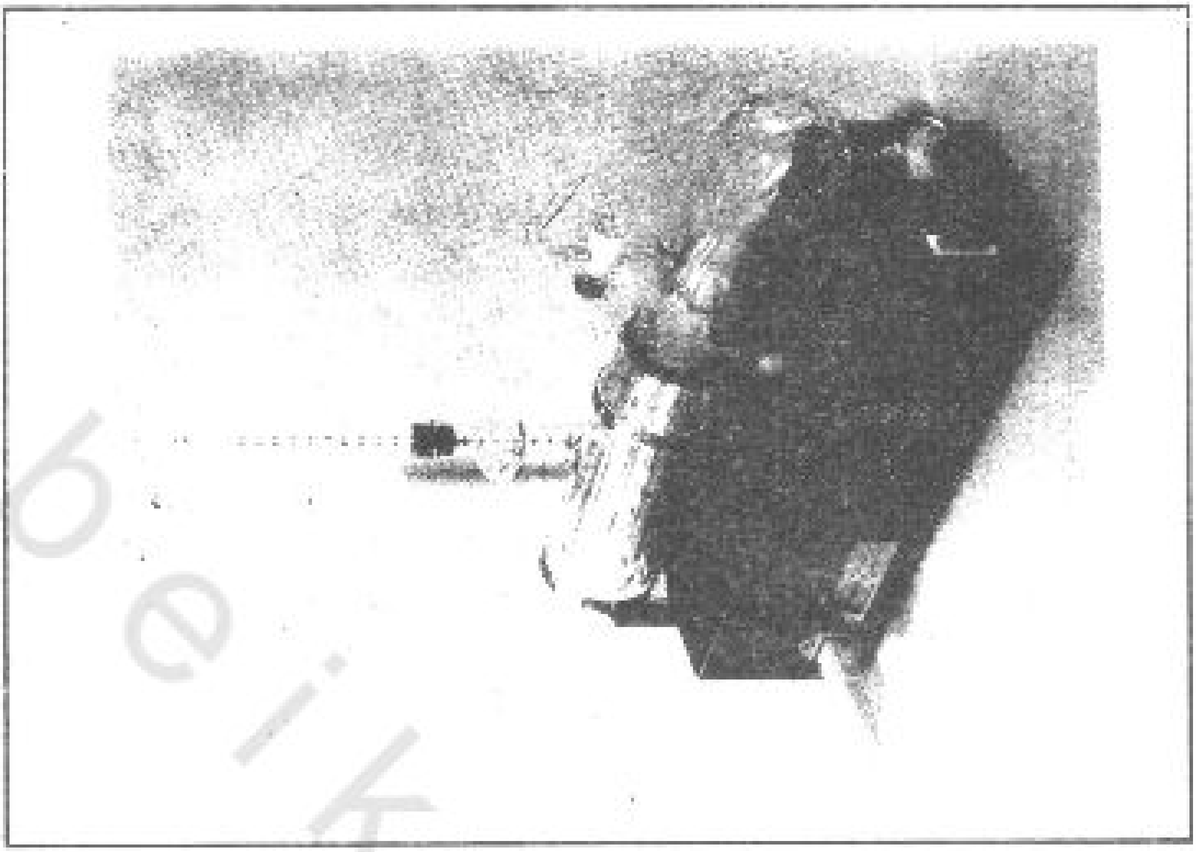
وهذا هو أساس القياس بالأجهزة المختلفة لنشاط الماء ، وهناك أجهزة تقيس من صفر إلى ١٠٠ ٪ رطوبة نسبية تحت ضغط جوي مختلف ودرجات حرارة مختلفة .

أما الرطوبة أو المحتوى المائي فتقاس بالأفران العادية ، أو ذات المراوح ، أو بالتجفيد ، أو تحت تفريغ ، وهناك أجهزة طورت منذ ثلاثين عاماً لقياس المحتوى الرطوبي ضوئياً وهي فوتومترات خاصة باستصدار ضوء متداخل مكون من شعاعين ، أحدهما للقياس والآخر للمقارنة ، يتم عكسهما بمرايا ليمرا بعد انعكاسهما من العينة على فوتومتر (مستقبل للضوء) بعد التحكم في أطوال موجاتهما بفلاتر (مرشحات) خاصة ، ويتحكم في فصل الشعاعين إليكترونيا وكذلك شدة الشعاعين يمكن تغييرهما ، وتستخدم هذه الطريقة في المواد الصلبة والمساحيق دون الإضرار بها ، وتقيس على أطوال موجات ١٠٠٠-٣٠٠٠ نانومتر حسب المحتوى الرطوبي ، وبنفس الجهاز يمكن تقدير مكونات أخرى كالدهون والبرتينات والألياف وغيرها .

وفي هذه الأجهزة الحديثة يستخدم Infrared reflection أي تستغل نظرية إسقاط وانعكاس الأشعة تحت الحمراء في تقدير المكونات الغذائية المختلفة في الأغذية المختلفة مثل جهاز مطياف الضوء ذى الأشعة تحت الحمراء Infrared Spectro Photometer وجهاز (Infrared Milk Analyzer (I R M A الذي يقدر أكثر من مكون في عديد من عينات اللبن في نفس الوقت .



(شكل ٨) جهاز تجفيد (تجفيف بالتجميد)



(شكل ٩) أحد أجهزة التجفيف تحت تفريغ

١٦ ـ أجهزة قياس معامل الانكسار :

وهي رفر اكتومترات مبنية أساساً على نظرية معامل الانكسار ⊙ = $\frac{\text{حا أ}}{\text{حا ب}} = \frac{\text{س}_{١}}{\text{س}_{٢}}$
[حيث ⊙ = معامل الانكسار ، حا أ = جيب زاوية سقوط الشعاع الساقط مع العمود المقام على سطح الانفصال عند نقطة السقوط ، حاب = جيب زاوية الانكسار للشعاع المنكسر مع نفس العمود المقام على سطح الانفصال ، $\text{س}_{١}$ ، $\text{س}_{٢}$ = سرعة الضوء في الوسطين المختلفين الكثافة] . ويقل معامل الانكسار بزيادة طول موجة الضوء ويزداد بنقصان طول موجة الضوء ، أي يزداد في اتجاه اللون البنفسجي من ألوان الطيف . كما يقل معامل الانكسار بارتفاع درجة الحرارة خاصة في السوائل ، وتصمم الرفراكتومترات باستغلال الزاوية الحرجة Critical angle (زاوية السقوط التي زاوية انكسارها تعادل ٩٠°) والتي يحدث بعدها الانعكاس الكلي Total Reflection ، وبمعلومية معامل الانكسار في المذيب وتقدير معامل الانكسار لمحلول من مركب ما مذاب في هذا المذيب ، فإنه يمكن استنتاج كمية هذا المذاب في هذا المحلول. ويدلنا هذا المقياس (معامل الانكسار Refractive Index) على جودة الزيوت والدهون ، فيزداد معامل انكسار الزيت بزيادة الرقم اليودي ، فمن ذلك يتم تتبع عملية هدرجة الزيوت غير المشبعة . ومعامل انكسار المحاليل المائية أكبر من معامل انكسار الماء (باستثناء كحول الميثايل) . ويتغير معامل انكسار السوائل بتغيير

تركيز المواد الصلبة الذائبة فيها ، فيمكن تقدير الكربوهيدرات الذائبة في محاليلها من معامل انكسارها ، ويتم تقدير معامل الانكسار على حرارة الغرفة ثم تعدل إلى ٢٠م من جداول خاصة ، ومن أشهر الرفراكتومترات هي رفراكتومترابي Abbe Refractometer ، رفراكتومتر الغطس Dipping or Immersion Refractometer ، رفراكتومتر الجيب لزايس Zeiss ، رفراكتومتر جيورتز Georz .

ويتكون رفراكتومترابي من منشورين وأنبوبتين متداخلتين ، وتوضع العينة على المنشور السفلي ويغلق الغطاء ويمر الضوء بواسطة مرآة موضوعة بزاوية معينة ، ويظهر الضوء المنعكس في صورة خلفية داكنة Dark Background ، تحرك الأنابيب التلسكوبية حتى يظهر الظل الأسمر متمركزا في متلاقي شعرتي التلسكوب .

وأفضل ضوء للرفراكتومترات هو ضوء النهار ، أو ضوء صناعي ٢٥ أو ٤٠وات على بعد ١,٥-٢ قدم (٤٥-٦٠سم) من الرفراكتومتر .

ويجب حفظ المناشير دائماً نظيفة ، إذ تنظف بماء دافئ وتجفف بورق ترشيح ، ولا يجب خدشها بالأقمشة المختلفة (فلا يستعمل إلا القطن) ، وينظف الدهن باستخدام التولوين ثم الأسيتون ثم الماء الدافئ .

١٧ ـ الاستقطاب الضوئي :

وهو تحويل مستوى مسار الضوء بعد نفاذه في المركبات المعدنية أو العضوية ، فالمادة المؤدية لهذا التحويل يطلق عليها أنها فعالة ضوئياً Optically active ، فإذا حول مستوى الضوء لليمين ، أي في اتجاه سير عقرب الساعة ، سميت المادة يمينية التحويل Dextro Rotatory ، أي أن الدوران موجب ، والعكس صحيح ، وتقاس قوة الفعل (التحويل) الضوئي للسوائل بجهاز قياس الضوء المحول Polariscope or Polarimeter وتزداد زاوية التحويل بزيادة تركيز المادة الذائبة . وينشأ الفعل الضوئي لمعظم المركبات العضوية عن وجود ذرة أو أكثر من ذرات الكربون غير متماثلة Assymetric ، أي يحيط بها ذرات أو مجاميع مختلفة ، ولكل مركب فعال ضوئي مشابه Isomer له نفس خواص المركب الأول (طبيعية وكيماوية) ، ويختلف عنه فقط في اتجاه تحويل الضوء المستقطب ، ويطلق عليهما بالمشابهات الضوئية ، أو التوائم الضوئية Optical Antipodes. والبلورات المستقطبة للضوء مثل الكالسيت ، ايسلاندسبار ، والكوارتز .

وتتكون البولاريمترات من جزء خاص باستقطاب الضوء (مستقطب Polarizer) ، وجزء محلل يشبه المستقطب تماماً ، أنبوبة المحلول المراد تحليله في طريق مسار الضوء بين المستقطب والمحلل ، عدسة توجيه الضوء ، عدسات تمكن الناظر من مشاهدة عمل الأجزاء السابقة ، تدريج دائري Circular Scale مبين عليه تدريج الزاوية التي يدور بمقدارها المحلل بحيث يسمح بنفاذ أكبر قدر ممكن من الضوء . ويصنع المستقطب والمحلل من بلورات

الايسلندسبار في صورة منشور نيكول Nicol Prism ، وكمصدر للضوء يستخدم ضوء بخار الصوديوم ، إذ يعطي ضوءاً موحد الموجة تقريباً ، ويستخدم البولاريمتر في قياس تحويل الضوء لمحاليل السكر مثلاً .

١٨ ـ قياس الألوان Photometry :

مبنى على قياس الضوء النافذ من المادة ، ووحدة الطاقة الضوئية هي الفوتون Photon ، والضوء المنظور (٤٠٠–٧٦٠ ملليميكرون) أو المرئي ـ أي الملون ـ يقسم تبعاً لطول الموجات وبالتالي الألوان كالتالي :

اللون المنظور	أحمر	برتقالي	أصفر	أخضر	أزرق	بنفسجي
مدى طول الموجة مليميكرون	٧٦٠–٦٢٠	٦٢٠–٥٩٠	٥٩٠–٥٧٠	٥٧٠–٥٠٠	٥٠٠–٤٥٠	٤٥٠–٤٠٠

وبزيادة طول الموجة الضوئية عن ٧٦٠ مليميكرون تبدأ الموجات تحت الحمراء infra red التي قد تصل أطوالها إلى أميال ، وبقصر طول الموجة عن ٤٠٠ مليميكرون تبدأ الأشعة فوق البنفسجية Ultraviolet ، ويعرف مخلوط كل الألوان لمختلف الموجات للضوء المرئي بالضوء الأبيض وتتفاعل الطاقة الضوئية (الفوتونات) المارة فى المادة مع جزيئات هذه المادة لإحداث زيادة فى الطاقة الدورانية للجزيئات ـ وكذلك الطاقة الاهتزازية ـ ولإثارة الشحنات فى الجزيئات ، وعلى ذلك تختلف أطياف الامتصاص Absorption Spectra باختلاف المواد، وذلك لاختلاف المواد فى احتياجاتها من الضوء لإحداث التأثيرات المذكورة هذه ، ويتوقف علم قياس الألوان على هذه الخاصية ، إذ يتم قياس تركيزات المركبات المختلفة بقياس الضوء الممتص عند أطوال الموجات التى يحدث لها امتصاص بواسطة هذه المركبات

تعرف الكثافة الضوئية Optical Density بأنها لوغاريتم مقسوم شدة الضوء قبل نفاذه فى المادة على شدته بعد نفاذه ، أو هى حاصل ضرب معامل الامتصاص Absorption Coefficient (ثابت على طول الموجة ودرجة الحرارة) فى التركيز (جزىء/لتر أو جم/لتر) فى سمك الوسط المار منه الضوء ، أو هى لوغاريتم مقلوب النفاذية transmission .

أى أن التركيز = الكثافة الضوئية/معامل الامتصاص X طول العمود النافذ منه الشعاع .

ويسمى معامل الامتصاص (في حالة التركيز بالجزيئات في اللتر) بمعامل الانطفاء Extinction Coefficient ، وهو متغير بتغير لون المحلول المختبر وتبعاً لطول موجة الضوء المستعمل ويرسم منحنى للعلاقة بين طول الموجة الضوئية ومعامل الانطفاء يسمى منحنى الامتصاص للمادة الملونة (وذلك باستخدام المطياف Spectrophotometer) ، وهو الذي يظهر ذروة المنحنى Peak Maxima التي تمثل منطقة أعلى امتصاص للضوء ، وهي خاصية تميز المواد عن بعضها ، وتفيد في قياس تركيز المادة المختبرة عند استخدام ضوء ذي طول

موجة مساوية للموجة التي يحدث عندها ذروة الامتصاص .

ويؤثر تركيز المحلول المختبر على الضوء النافذ وعلى لون المحلول (الضوء الغير ممتص) . ويمكن تقدير تركيز مركب ما في محلول بمقارنة قوة امتصاص الضوء ، أو قوة انتقال الضوء (نفاذيته) أو بكثافة اللون ، وذلك بمحلول معلوم التركيز .

واللون ناتج من انعكاس الضوء الغير ممتص بواسطة المادة ، والواقع على شبكية العين منتجا الإحساس باللون .

وأبسط أجهزة قياس الألوان هي قرص الألوان Colour Discs ، وقاموس الألوان Colour Dictionary مثل قاموس مرتز وباول Maerz & Paul وأجهزة قياس الألوان البصرية Vision Colorimeters ، أو المقارنة البصرية Visual Comparison المعتمدة على العين ، بمقارنة شدة الضوء النافذ من محلول مراد قياس تركيزه مع زجاج ملون بدرجات عديدة ، ومنها أجهزة هلجا ولوفيبوند Hellige Comparator ، Lovibond Tintometer ، ويستخدم الأخير ثلاث مجاميع من الألوان (أحمر ، أصفر ، أزرق) في كل منها خمسون شريحة متدرجة الألوان ، ولكل منها رقم دال على قيمة امتصاص معينة . وقد تستخدم المقارنة للمجهول مع محلول قياسي من المادة المراد تقديرها . وحساسية العين تختلف باختلاف الألوان واختلاف الأضواء والأشخاص .

ومن الطرق البسيطة الأخرى : طريقة التخفيف Dilution Method ، وفيها يستخدم محلول قياسي يقارن به العينة مجهولة التركيز ، ويتم تخفيف أحدهما حتى نحصل على شدة لون واحدة للمحلول القياسي والمجهول ، وهذه أقل دقة عن سابقتها ؛ لأن التخفيف يضر باللون وشدته وهي أساس التقدير .

وللتغلب على مساوئ الطرق البسيطة هذه يجرى تقدير ومقارنة شدة الضوء بعد خروجه من المواد الملونة بالوسائل الكهربية التي أهمها انبعاث الالكترونات Emission of Electrons من سطوح معدنية عند تعرضها للضوء في فراغ أو في وجود غاز تحت ضغط منخفض ، وهو أساس الخلايا الضوئية Photo Tubes ، وهو الشائع الاستخدام في أجهزة قياس الألوان كهربيا أو الأجهزة الضوءكهربية Photoelectric Colorimeters ، والتي تمتاز بزيادة الدقة والحساسية ، وقصر الوقت اللازم للاختبار ، مع ضآلة الحجم اللازم للفحص من المادة المختبرة ، مع سهولة التقدير الكمي لتركيزات المحاليل باهتة الألوان التي لايمكن تقديرها بالعين المجردة ، كما يسهل تقدير مادة ملونة في وجود مواد ملونة أخرى .

وتستخدم مع هذه الأجهزة مرشحات ضوء Light Filters للسماح بالضوء الذي يمتصه المحلول فقط بالمرور دون الموجات الأخرى لأنه لو مرّ الضوء بدون المرشح للضوء فإن كمية الضوء الممتص بواسطة المحلول تكون قليلة وتكون المرشحات من الزجاج الملون ، أو

منشورات (Prisms) ، أو شبكات تشتت (انعطاف) الضوء (Diffraction Grating) . ومن هذه الأجهزة الكهربية لقياس الضوء Colorimeters Spectrophotometers ، وأبسطها مقياس ايفلين Evelyn Colorimeter ، ومقياس كليت سومرسون Klett - Summerson Photoelectric Colorimeter ، وتتركب أساساً من مصدر ضوئي ومركم ومقاومة متغيرة وأنبوبة المحلول وخلية كهرو ضوئية وجلفانومتر ومرشح ضوء ، ويكون تركيز المجهول مساوياً لقراءة تدريج المجهول مضروبا في تركيز المحلول القياسي / قراءة التدريج للمحلول القياسي .

ونظرية مطياف الضوء ، أو أجهزة مقياس الألوان الكهربية تعتمد على قوانين لامبرت وبير Lambert and Beer ، وخلالها تعرف عدة مقاييس منها : العبور Transmittance or Transmission (T) وهي نسبة الضوء المار إلى الضوء الساقط أو (T_s) وهي نسبة العبور من خلال محلول ملون إلى العبور من خلال المحلول المذيب فقط ، الكثافة الضوئية Optical Density (OD) أو الانطفاء Extinction (E) أو الامتصاص Absorbency (A) وهي لوسط ما عبارة عن النسبة اللوغاريتمية لشدة الضوء الساقط إلى الضوء الخارج (ويمكن تحويل النسبة المئوية للعبور (%T) إلى كثافة ضوئية (OD) حيث إن $OD = 2 - \log T_s$) .

ومعامل الانطفاء Extinction Coefficient (أو دليل الامتصاص Absorbence Index) عبارة عن OD / وحدة طول ممر ضوء ، معامل الانطفاء النوعي أو الخاص Specific Extinction Coefficient (الامتصاص) هو الكثافة النوعية لكل وحدة طول ممر ضوئي ووحدة تركيز ، وعندما يجهل الوزن الجزيئي لمادة ما فإن هذا المصطلح يستخدم عادة مع كتابة التركيز أعلاه وطول الممر أسفله ، فمثلاً ($E^{1\%}_{1cm}$ 440nm) = 50 أي أن مادة مجهولة عند طول موجة ٤٤٠ نانومتر وطول المحلول المار فيه الضوء ١سم (أي عرض الخلية Cuvette التي بها المحلول المراد قياسه في الجهاز) والتركيز ١ ٪ (١جم/١٠٠مل) والامتصاص A = ٥٠ ، ومعامل الانطفاء الجزيئي Molecular Extinction Coefficient (E) (أو الامتصاص المولر Molar Absorptivity أو دليل الامتصاص المولر Molar Absorbency Index) هو معامل الانطفاء النوعي لتركيز ١جم مول / لتر (محلول مولر) وطول ممر ١سم .

ويعتمد التحليل الضوئي الكهربي على مقارنة تركيز مادة ما بقياس الامتصاص النسبي للضوء بالنسبة لتركيز معلوم من هذه المادة (محلول قياسي) ، وفي هذه الطرق تحل الخلايا الكهروضوئية Photoelectric Cells محل العين (في المقارنة البصرية البسيطة) ، ومن هذه الخلايا اشتق اسم طرق التحليل اللوني الكهربي الضوئي Photoelectric Colorimetry ، وفيها يمر طول موجة موحد mono chromatic باستخدام مرشحات ، لذا سميت الأجهزة كذلك Filter Photometers والفارق بين جهاز قياس الضوء كهربيا Colorimeter وجهاز المطياف Spectrophotometer ، أن الأول يحتوي على خلية كهروضوئية والثاني

يحتوي بالإضافة على الخلية الضوئية كذلك جهاز قياس الطيف Spectrometer المنتج للضوء الملون لأي لون معين أو طول موجة محدد Monochromator ويدرج لأطوال موجات (نانومتر أي ملليميكرون nm = mu) فبالاسبكترومتر يحدد طول الموجة وبالفوتومتر تقاس شدة هذا الضوء .

وفيما يلي بعض وحدات القياس المستعملة :

١ انجستروم (Å) Angstrom unit = $١٠^{-١٠}$م = $١٠^{-٨}$ سم .

١ ملليميكرون (mu) Millimicron (أو nm) = $١٠^{-٧}$ سم = ١٠ أنجستروم .

١ ميكرون micron U = $١٠^{-٤}$ سم = $١٠^{٤}$ أنجستروم .

سرعة الضوء = ٢٩٩٧٩٦ × $١٠^{١٠}$ سم/ثانية .

ويرجع بعض العلماء عدم تسمية أجهزة قياس اللون كهروضوئي photoelectric colorimetry بأنها colorimeters ، بل يفضلون تسميتها Absorptiometers لأنها تقيس كمية الضوء الممتص ، وأساس تركيبها مبني على :

١ ـ مصدر ضوئي تختلف شدته باختلاف الأجهزة .

٢ ـ وسيلة تحكم في طول الموجة وقد تكون مرشحات Filters ، أو شباك انعطاف الضوء Diffraction Grating ، أو مناشير Prisms .

٣ ـ خلايا لوضع المحاليل الملونة وقد تكون أنابيب اختبار أو Cuvettes .

٤ ـ عنصر حساس ضوئيا Photosensitive قد يكون سيلنيوم متصل بجلفانومتر Galvanometer ، وقد تحتوي أجهزة أخرى على أنابيب باعثة للضوء كصمامات الراديو .

٥ ـ وسيلة مناسبة لقياس الخارج من العنصر الحساس ضوئياً وغالباً يكون عبارة عن الجلفانومتر .

المطياف Spectrophotometers يطلق اسم المطياف على أجهزة قياس اللون كهربيا ، والتي تسمح بقراءة الانطفاء Extinction على أطوال موجات مختلفة مستمرة ، وذلك في المدى المرئي وقرب التحت أحمر ، وقد يكون كذلك في المدى فوق البنفسجي ، فمنها ما يقيس على أطوال موجات ٢٠٠–٦٢٥ ، ٦٢٠–١٠١٠ نانومتر أو من ٣٦٠–١٠٠٠ نانومتر أو ٣٤٠–٧٥٠ نانومتر أو ١٨٥–١٠٠٠ نانومتر ، وأخيراً أمكن تدفق السائل لأجهزة قياس اللون كهروضوئياً دون وضعه في خلايا Cuvettes متحركة كبيرة ، بل الخلايا ثابتة ودقيقة وتمكن من القراءة اللونية المستمرة والسريعة .

ويلزم استخدام الخلايا الخاصة بالجهاز وعدم استخدام غيرها ، كما يلزم ضبط الجهاز على انطفاء صفر أي نفاذية ١٠٠٪ باستخدام بلانك قد يكون ماءً مقطراً أو مذيباً ، ثم

تحدد انطفاء محلول قياسي ثم انطفاء العينة ويحسب التركيز كالتالي :

$$\text{تركيز المجهول (العينة)} = \frac{\text{قراءة الجهاز للعينة } x \text{ تركيز المحلول القياسي}}{\text{قراءة الجهاز للمحلول القياسي}}$$

ومن المعادلات التي تحول الكثافة الضوئية لنفاذية فعلية ، وضعت جداول لهذه العلاقة منها تستنتج مقياس بمعلومية الآخر .

وقد نلجأ لرسم منحنى قياسي Standard Curve لمحلول قياسي مختلف التركيز (العلاقة بين التركيز والكثافة الضوئية) لاستخدامه في حساب تركيز المادة المجهولة التركيز (العينة) بمعلومية كثافتها الضوئية وتوقيعها على المنحنى القياسي .

تحويل قراءة أجهزة القياس الضوئية من نفاذية ٪ (% Transmission) (%T) إلى كثافة ضوئية Optical Density (OD) .

%T	OD	%T	OD	%T	OD	%T	OD	%T	OD
1	2.0000	21	0.6778	41	0.3872	61	0.2147	81	0.0915
2	1.6990	22	0.6576	42	0.3768	62	0.2076	82	0.0862
3	1.5229	23	0.6383	43	0.3665	63	0.2007	83	0.0809
4	1.3979	24	0.6198	44	0.3565	64	0.1938	84	0.0757
5	1.3010	25	0.6021	45	0.3468	65	0.1871	85	0.0706
6	1.2218	26	0.5850	46	0.3372	66	0.1805	86	0.0655
7	1.1549	27	0.5686	47	0.3279	67	0.1739	87	0.0605
8	1.0969	28	0.5528	48	0.3188	68	0.1675	88	0.0555
9	1.0455	29	0.5376	49	0.3098	69	0.1612	89	0.0506
10	1.0000	30	0.5229	50	0.3015	70	0.1549	90	0.0458
11	0.9586	31	0.5086	51	0.2924	71	0.1487	91	0.0410
12	0.9208	32	0.4949	52	0.2840	72	0.1427	92	0.0362
13	0.8861	33	0.4815	53	0.2757	73	0.1367	93	0.0315
14	0.8539	34	0.4685	54	0.2676	74	0.1308	94	0.0269
15	0.8239	35	0.4559	55	0.2596	75	0.1249	95	0.0223
16	0.7959	36	0.4457	56	0.2518	76	0.1192	96	0.0177
17	0.7696	37	0.4318	57	0.2441	77	0.1135	97	0.0192
18	0.7447	38	0.4202	58	0.2366	78	0.1079	98	0.0088
19	0.7212	39	0.4089	59	0.2291	79	0.1024	99	0.0044
20	0.6990	40	0.3974	60	0.2218	80	0.0965	100	0.0000

حيث إن G عباره عن قراءة الجلفانومتر كنفاذية ٪

$$OD = 2.000 - \log G$$

معايرة جهاز Spectrophotometer :

يجرى تقدير معايرة جهاز الاسبكتروفوتومتر بغرض تعيين مدى دقته ، وتقدير معامل تصحيح لقراءاته ، وذلك بتقدير التركيز لثلاثة محاليل من ثاني كرومات البوتاسيوم ($K_2 Cr_2 O_7$) في حمض الكبريتيك معلومة التركيز مسبقا (٠,٢٥ ، ٠,١٢٥ ، ٠,٠٦٢٥ ملليمول) ، على طول موجة أعلى امتصاص ٣٥٠ نانومتر ، مع بلانك من حمض الكبريتيك ٠,٠١٨ ع كمذيب وكونترول .تحسب مقدرة الامتصاص المولارية (E) على كل تركيز حيث إن :

$$E = (A \times 1000) / \text{Concentration mM}$$

حيث إن A = قراءة الجهاز mM = التركيز بالملليمول للكرومات (Conc. mM) ،

وإن E= مول – امتصاص (Mol - Extenction) .

فتقدر (E) للثلاث تركيزات ، ويؤخذ متوسطهم للحصول على (E') ، فيحدد معامل التصحيح للجهاز (CF) من المعادلة :

$$CF = 3160 / E'$$

حيث إن ٣١٦٠ هو قيمة (E) لثاني كرومات معلومة .

فإن كان معامل التصحيح أصغر من ٠,٩٥ أو أكبر من ١,٠٥ فيختار جهاز آخر أو تكنيك آخر .

حمض الكبريتيك ٠,٠١٨ عياري عبارة عن ١ مل يد٢ كب أ٤ في ٢ مل يد٢ أ .

ثاني كرومات بوتاسيوم ٠,٢٥ ملليمول عبارة عن ٧٨مجم في لتر يد٢ كب أ٤ ٠,٠١٨ ع.

ثاني كرومات بوتاسيوم ٠,١٢٥ ملليمول عبارة عن ٢٥ مل من المحلول السابق (٠,٢٥ ملليمول) مع ٥٠ مل حامض يد٢ كب أ٤ ٠,٠١٨ ع . أما محلول الكرومات ٠,٠٦٢٥ ملليمول فيخفف ٢٥مل من المحلول السابق (٠,١٢٥ ملليمول) مع ٥٠ مل يد٢ كب أ٤ ٠,٠١٨ ع .

وعند حساب التركيز الصحيح لمركب ما باستخدام معامل التصحيح (CF) للجهاز ، ومعلومية الوزن الجزيئي للمركب (MW) والمقدرة الامتصاصية المولارية (E) له ، ثم قراءة الجهاز (A) تستخدم المعادلة :

$$\text{Conc . ug / ml} = (A \times MW \times 1000 \times CF) / E$$

من المطياف ما يقيس في حدود ١٠٠–٨٠٠ نانومتر ، ومنه ما يقيس الطيف التحت أحمر Infra Red (IR) Spectra الناتج من الاهتزازات Vibrations الراجعة لتأثير الإشعاع على

الجزيئات ، فيحدث عدم نظام وإعادة توزيع الشحنات السالبة ، فيقيسها جهاز الأشعة تحت الحمراء ذو المناشير الصخرية Rock prisms ، لأن الزجاجية لا تنفذ الأشعة تحت الحمراء ، ومن هذه الأجهزة ما يستخدم في الطرق الفلورمترية Fluorimetric Techniques ، وهي حساسة جداً ، إذ تقيس تركيزات حتى $١٠^{-١٠}$ جرام / مل .

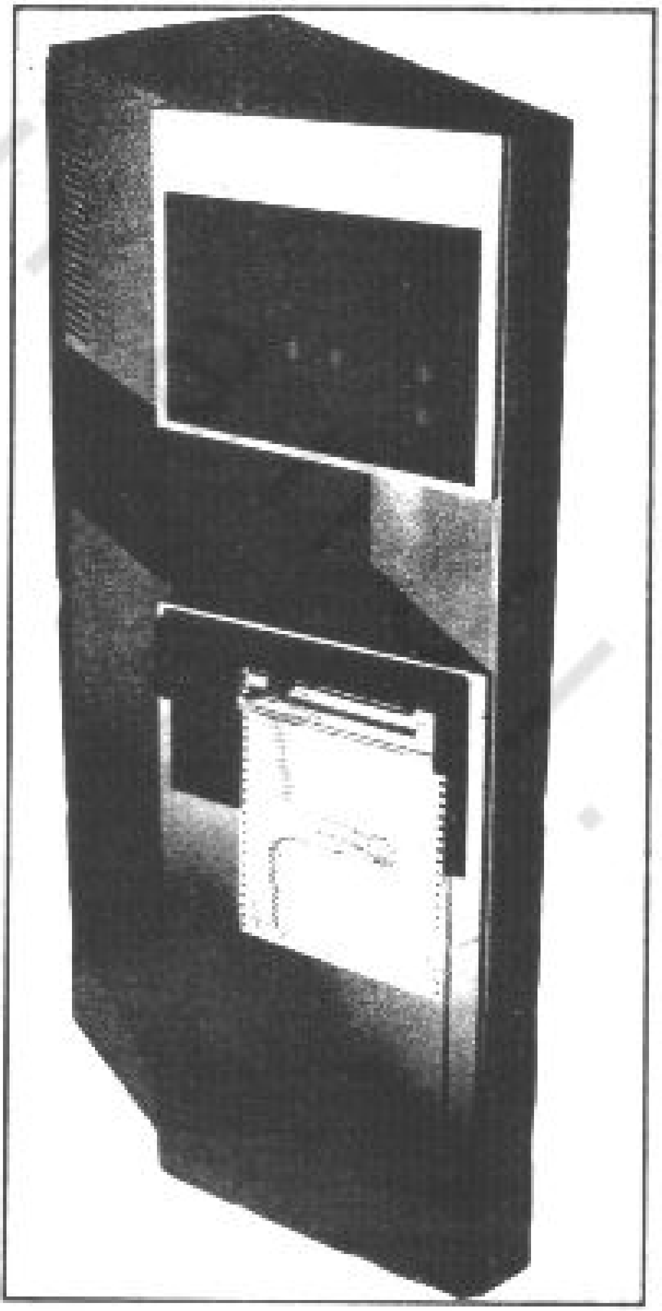
بعض الجزيئات تمر بحالة هياج Exciting أو حركة نتيجة حركة الكتروناتها ، وتزيد طاقتها ، وجزء من هذه الطاقة يكون كضوء فلورسنتي Fluorescent Light ، وهذه الأجهزة بها نفس مكونات الأجهزة السابقة من مصدر ضوء ووسيلة تحديد طول الموجة والخلايا للمحاليل ، وقد تعمل بالمرشحات (Fluorimeters) أو شباك انعطاف الضوء (Spectrofluorimeters) والخلايا يجب ألا يكون لها فلورسنس ، فتستخدم خلايا من الكوارتز أو السليكا، ويقل الفلورسنس بارتفاع الحرارة ، كما يتأثر بتغييرات PH لإضرارها بالتأين ، ومن المطياف ما يستخدم في قياس الضوء الناتج من تركيز أيونات محلول تبخر في اللهب ، وهي طرق حساسة للغاية ودقيقة ، وتعطي نتائج حتى ١ جزء في المليون ،كما في تقدير التلوثات المعدنية باستخدام مطياف الامتصاص الذري أو فوتومتر اللهب Flame or Atomic Absorption Spectro (AAS)Photometer ، ومطياف الامتصاص الذري أدق وأكثر ثباتاً من فوتومتر اللهب ، يستخدم فيها كمرشح أنبوبة ارجون أو نيون .

وتتم أكسدة العينة في غرفة قبل دخولها للهب باستخدام خليط الهواء والاستيلين (٢١٠٠–٢٤٠٠°م) ، وتؤثر لزوجة المحلول على تبخره ، كما يؤثر عليها كذلك وجود السليكا ، أو المعادن القلوية ، لذا تعالج العينة بالـ Ammonium Pyrrolidine Dithocarbamate لتجميع أي آثار من هذه المعادن ، ويتكون Flame Photometer من اللهب كمصدر ضوء ورشاش للعينة في صورة رذاذ للهب ، ومرشح مقياس حساس للضوء ، وطريقة لقياس الانبعاث المرغوب .

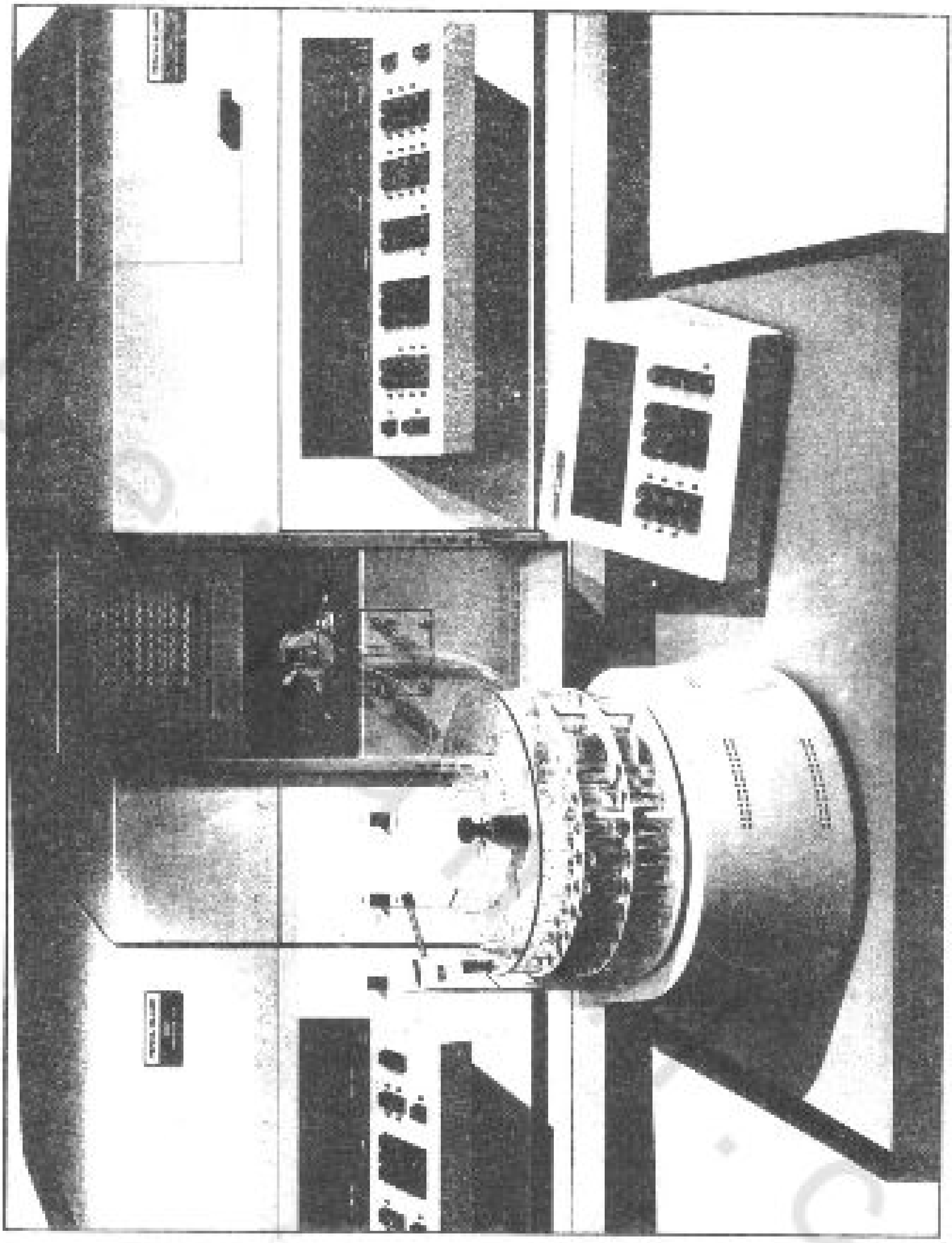
ومن هذه الأجهزة ما يقيس الفسفرة Phosphorimetry ، وهي ناتج انطفاء وتأين الذرات والجزيئات وهي شبيه بالفلورسنس ، إلا أن الأخير مرتبط بالانطفاء بدون تأين ، وبالفسفرة تفقد طاقة في صورة ضوء منبعث عند رجوع الأيون الثائر لحالته الطبيعية ، وانبعاث الفسفرة هو عمل تركيز الجزيئات النشطة إشعاعياً Radioactive .

أما مطياف الكتلة Mass Spectrophotometer يعطي معلومات تفيد في التعرف على العينة المختبرة ، فإزالة الالكترونات الخارجية في ذرة أو جزيء ينتج عنها أيون ذو شحنة موجبة تميز طيف الكتلة ، لإعطائها مركب قادر على التطاير على حرارة ٣٥٠°م ، وعليه فيعطي طيف الكتلة المرسوم دلائل ويميز هذا المركب .

ويمكن لأجهزة القياس الكهروضوئية من تقدير العكارة Turbidimetry ، فالضوء



(شكل ١٠) إسبكتروفوتومتر أشعة تحت حمراء



(شكل ١١) مطياف امتصاص ذري أوتوماتيك لتقدير المعادن

١٩ ـ الكروماتوجرافي Chromatography :

واحد من أشهر وأحدث الطرق العلمية المتبعة في مختلف طرق التحليل ، ويشمل التكنيك طرق الكروماتوجرافي : الورقي ، رقيق الطبقة ، العمودي ، السائل ، الغازي .

ورغم أن الاسم اشتق من أعمال العالم الروسي Tswett فى عام ١٩٠٦ (فى فصل صبغات Chromatics نباتية ملونة) ، إلا أن التكنيك يستخدم الآن فى فصل مكونات عديدة عديمة اللون ، خلافاً لما سمي التكنيك على أساسه من فصل المواد الملونة .

ويعرف التحليل الكروماتوجرافي بأنه وسيلة لفصل مكونات خليط من المركبات العضوية أو غير العضوية ، نتيجة لاختلاف سرعة هجرتها في النظامين (الوسطين) المكونين للكروماتوجرافي وهما النظام (الوسط) المتحرك Mobile Phase ، والنظام (الوسط) الثابت Stationary Phase ، وعليه فتتركز المركبات في مناطق مختلفة .

وقد تعددت طرق تقسيم وتصنيف الكروماتوجرافي وفيما يلي بعض طرق التقسيم هذه :

أولاً : يمكن تقسيم طرق التحليل الكروماتوجرافي طبقاً لقوى الفصل المستخدمة :

١ ـ فصل كروماتوجرافي بالادمصاص	Adsorption Chromatography
٢ ـ فصل كروماتوجرافي بالتوزيع (التجزيئي)	Partition Chromatography
٣ ـ فصل كروماتوجرافي بتبادل الأيونات	Ion Exchange Chromatography
٤ ـ فصل كروماتوجرافي بالترشيح على الجيل	Gel Filtration Chromatography

ثانياً : أمكن تقسيم الكروماتوجرافي من حيث صوره المختلفة الآتية :

١ ـ كروماتوجرافي غازي	Gas Chromatography (GC)
١-١- كروماتوجرافي غاز ـ سائل	Gas Liquid Chromatography (GLC)
١ ـ ٢ ـ كروماتوجرافي غاز ـ صلب	Gas Solid Chromatography (GSC)
٢ ـ كروماتوجرافي سائل	Solution Chromatography (SC)
٢-١- كروماتوجرافي عمودي .	Column Chromatography
٢-٢- كروماتوجرافي تبادل أيوني .	
٢-٣- كروماتوجرافي ترشيح بالجيل .	
٢-٤- كروماتوجرافي ورقي.	Paper Chromatography
٢-٥- كروماتوجرافي رقيق الطبقات .	Thin Layer Chromatography (TLC)

ثالثاً : قسم الكروماتوجرافي حسب وسيلة العمل إلى :

١ ـ كروماتوجرافي ورقي .

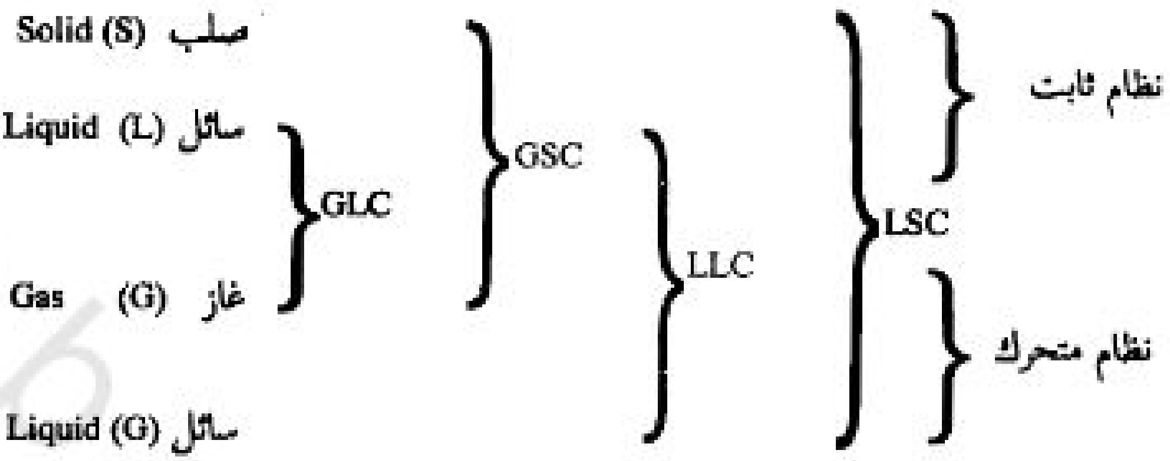
٢ ـ كروماتوجرافي عمودي .

٣ ـ كروماتوجرافي رقيق الطبقات .

٤ ـ كروماتوجرافي غازي .

٥ ـ باستخدام الجهد الكهربي Electrophoresis

رابعاً : أمكن تقسيم الكروماتوجرافى من حيث نظامية المتحرك والثابت إلى :

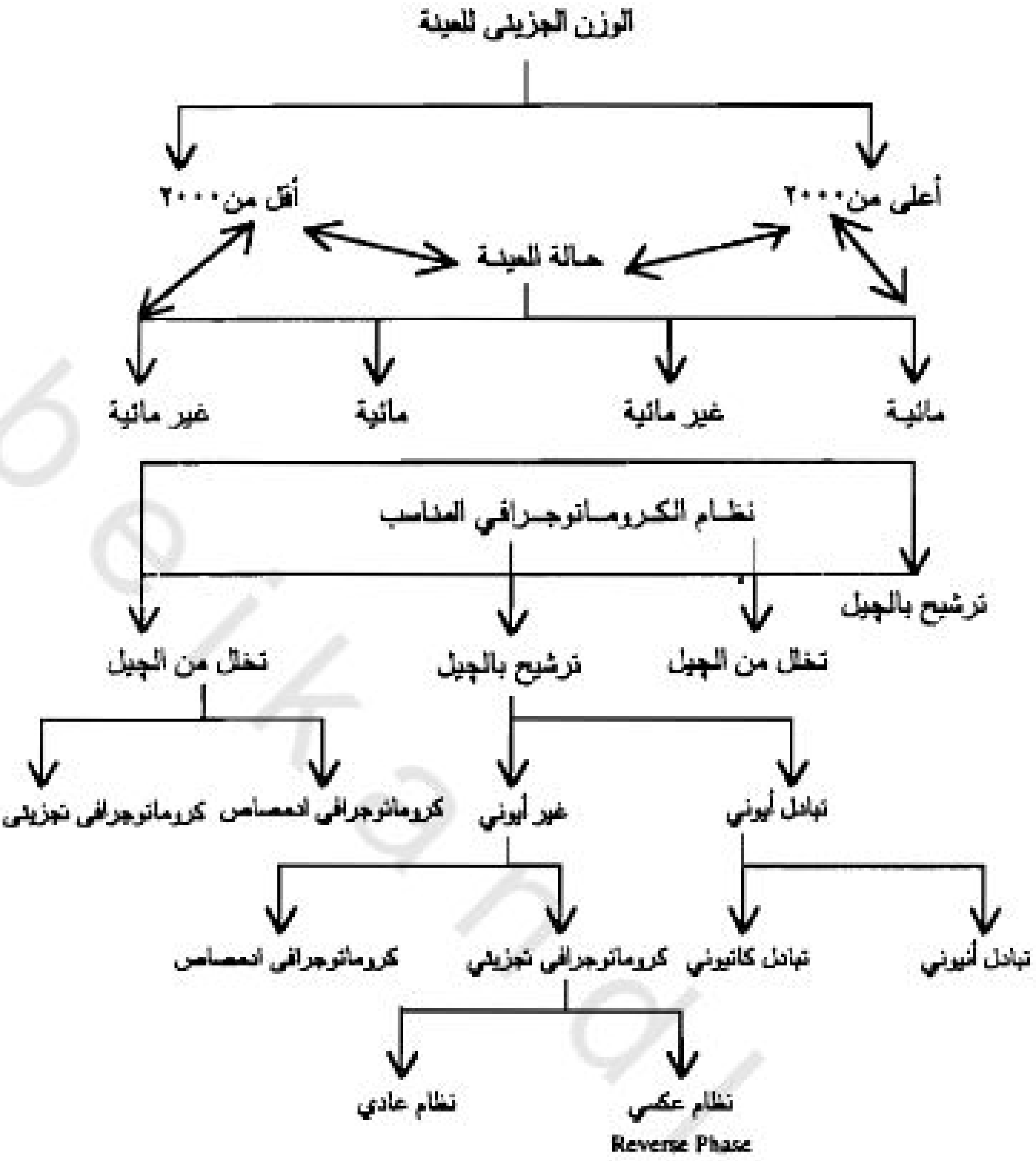


١ـ كروماتوجرافى غاز ـ سائل	Gas Liquid Chromatography (GLC)
٢ ـ كروماتوجرافى غاز ـ صلب	Gas Solid Chromatography (GSC)
٣ ـ كروماتوجرافى سائل ـ سائل	Liquid Liquid Chromatography (LLC)
٤ ـ كروماتوجرافى سائل ـ صلب	Liquid Solid Chromatography (LSC)

خامساً : قسم برون Brown (١٩٧٣) نظم الكروماتوجرافى كما يلى :

١ـ غاز :
١ـ١ـ غاز سائل GLC
١ـ٢ـ غاز صلب GSC
٢ ـ سائل :
٢ـ١ـ سائل سائل LLC
٢ـ٢ـ سائل صلب LSC
٢ـ٣ـ تبادل أيونى .
٢ـ٤ـ غربلة جزيئية . Molecular Sieving
٢ـ٤ـ١ـ ترشيح بالجيل .
٢ـ٤ـ٢ـ تخلل من الجيل . Gel Permeation

وقد قسم برون كذلك العينات التى سيتم تحليلها من حيث أوزانها الجزيئية ، وحالتها ، ونظام الكروماتوجرافى المناسب لها كما يلى :



وقد ذكر هوبر Huber (١٩٧٧) أنه لتحليل عينة ما كروماتوجرافيا ، فإن هناك اختيارا بين أربعة سبل مختلفة وهى :

١ ـ كروماتوجرافى إدمصاصى .

٢ ـ كروماتوجرافى توزيعى (تجزيئى) .

٣ ـ كروماتوجرافى تبادل أيونى .

٤ ـ كروماتوجرافى تخلل من الجيل .

واختيار أحد هذه الأنظمة يتوقف على تركيب مكونات العينة ، فمثلاً لفصل عينة من مكونات عضوية تختلف فى نوع وعدد المجاميع النشطة على الهيكل الكربونى لها فيمكن

obeikandi.com

استخدام النظام الأول أو الثانى ، فالنظام الأول (ادمصاصى) يمكن من فصل المواد المتناظرة التركيب Ismeric ، كما يمكن كل من النظام الأول والنظام الثانى (التوزيعى أو التجزيئى)من فصل المواد المتشابهة التركيب مختلفة الوزن الجزيئى ، بحيث يكون وزنها الجزيئى أقل من ١٠٠٠ ، ويستخدم النظام الثالث (تبادل أيونى) فى فصل المركبات كالأحماض والقواعد ، والنظام الرابع (تخلل من الجيل) يستخدم فى فصل المركبات مختلفة الوزن الجزيئى .

وتعتمد مقدرة الفصل لوسائل الكروماتوجرافى المختلفة على :

١ ــ مادة الادمصاص وتركيبها وحجم حبيباتها ومتوسط قطرها وتوزيع حجم الحبيبات ، وما قد تطلى به السطوح الخارجية للحبيبات من مركبات نشطة .

٢ ــ فى الكروماتوجرافى العمودى يتوقف الفصل على طول العمود ومساحة مقطعه (أبعاد العمود) ، أى رقم وارتفاع الأرضية ورقم الفصل ، كما يتوقف على المادة الحاملة (النظام الثابت) بالعمود ومدى ضغط حبيباتها والضغط الجوى الواقع عليه ، كذلك يتوقف على نوع خليط المذيبات المستخدم وبولاريته .

٣ ــ الكروماتوجرافى الورقى يلزمه اختيار نوع الورق المناسب من حيث مساميته وتركيبه الليفى وسرعة سريان المذيب فيه ، ومدى نقاوة الورق والمذيب ونظافتهم وخلوهم من الشوائب من دهون وبروتينات وأملاح وخلافها .

٤ ــ فى الكروماتوجرافى رقيق الطبقات TLC تتوقف القدرة على الفصل على سمك طبقة المادة الحاملة (مادة الادمصاص) أو النظام الثابت ومدى تجانس وانتظام سمك هذه الطبقة ، كما تتوقف على نوع هذه المادة ومواصفاتها الطبيعية والكيماوية ، وكذلك على نوع المذيبات المستخدمة فى تحميض العينة على الرقائق وبولارية هذا المخلوط من المذيبات وسرعة سريانه على الرقائق ، وكذلك على نسبة المسافة التى يسيرها المركب المراد تقديره منسوبًا إلى المسافة التى يسيرها المذيب أو ما يسمى بسرعة السريان Rate of Flow (${}^{R}F$) ، وهى نسبة ناتجها يتراوح بين الصفر والواحد الصحيح ، وإن عبر عن هذه النسبة كنسبة مئوية RF% فإنها تتراوح ما بين صفر – ١٠٠ .

٥ ــ الكروماتوجرافى السائل تتأثر نتائجه كذلك (بالإضافة لما يتعلق بالعمود) بدرجة حرارة الجهاز وسرعة سريان المذيب ونوعه ونوع Detector المستخدم سواء UV أو Fluorescence .

٦ ــ فى الغاز كروماتوجرافى تتوقف قدرة الفصل لمركبات عينة على نوع العمود وقطره وطوله ومادته المائعة ومواصفاتها وبرنامجه الحرارى الذى ستفصل عليه مركبات العينة، ومعدل تدفق الغازات الحاملة ، والغازات الكلية ونوع الـ Detector المستعمل .

٧ ـ كما تتوقف كفاءة الفصل عموماً على نوع المذيب Solvent المستخدم كمية ونوعاً ، وعلى نوع العينة وتركيز مكوناتها ، وطريقة تحويلها لصورة قابلة للتحليل بالتكنيك المنتخب الملائم ، ودرجة الحرارة كلما انخفضت زاد الادمصاص وكلما ارتفعت قل الادمصاص ، ومن أهم العوامل كذلك استبعاد وسائل التلوث المختلفة ، وذلك باتباع النظام الدقيق والنظافة التامة فى استعمال الأدوات والزجاجيات والأوانى والمحاليل وخلافه .

٨ ـ لدقة نتائج الكروماتوجرافى الورقى ورقيق الطبقات وأليكتروفوريسيس يستلزم أن يكون حيز التحميض مشبعاً بالمذيب .

وفيما يلى وصف لطرق التحليل الكروماتوجرافى المختلفة :

أولاً : التحليل الكروماتوجرافي بالادمصاص :

وتتم عملية الفصل بواسطة الادمصاص على مواد ادمصاصية مختلفة منتقاة ، سبق معاملتها ، توضع على صورة مسحوق فى أنبوبة رأسية زجاجية ، ثم يذاب المخلوط المراد فصله فى مذيب مناسب ويسمح له بالسريان من أعلى الأنبوبة إلى أسفلها ، مع تعريضه لضغط من أعلى أو إلى تفريغ من أسفل ، فالمادة التى لها ميل أكثر للادمصاص تدمص أولاً وتتركز فى المنطقة العلوية من الأنبوبة ، يليها المادة التى ميلها للادمصاص أقل ، حيث تتركز فى الطبقة التى تليها من أسفل ، فيمكن التعرف على هذه المناطق وفصلها عن بعضها ، والادمصاص يعنى زيادة تركيز المادة عند السطح ما بين الصلب والسائل ، أى أن الادمصاص على السطوح الصلبة لمادة الادمصاص Adsorpent ، وذلك تمييزاً عن الامتصاص الذى يعنى ذوبان المادة فى السائل . وكل مادة من مكونات الخليط تتعامل مع مادة الادمصاص بمفردها ، كلما قل حجم حبيبات مادة الادمصاص ، كلما زادت قدرتها على الادمصاص لزيادة المسطحات القادرة على الادمصاص ، وكلما قلت درجة الحرارة كلما زاد الادمصاص ، وذلك لقلة الحركة الجزيئية للجزيئات .

ويتم ادمصاص المواد القطبية Polar ، بينما لا تدمص المواد الغير بولارية Non Polar إلا إذا انخفضت درجات الحرارة ، هذا وتزيد قدره الادمصاص بزيادة تركيز المادة حتى تركيزات معينة ، بعدها لا يستجيب الادمصاص .

ثانياً : التحليل الكروماتوجرافى بالتجزىء (التوزيع) :

وفيه تستخدم كذلك مادة ادمصاصية مثل السليكاجيل ، مسحوق السليلوز ، أو النشا ، فى أعمدة (كروماتوجرافى عمودى) أو على الورق (كروماتوجرافى ورقى) ، وترطب مواد الادمصاص قبل إضافة مخلوط العينة عليها ، والمخلوط يكون مذاباً فى مذيب عضوى يمتزج جزئياً بالماء المرطب لمادة الادمصاص ، والفصل هنا راجع لاختلاف فى المعامل التجزيئى (التوزيعى) Partition Coefficient ، حيث يرجع فصل المواد المكونة لمخلوط العينة

إلى ذوبانها بكميات متفاوتة فى كل من المذيب الملتصق بمادة الادمصاص المؤدى لترطيبها (وهو غالباً الماء) وفى المذيب المنسكب ، حيث إن معامل التوزيع لكل من نظامى المذيبين يختلف بالنسبة لكل مادة ، وعليه فإن المواد الأكثر قابلية للذوبان فى المذيب العضوى تتركز فى أسفل الكروماتوجرام ، بينما المواد الأكثر قابلية للذوبان فى الماء تتركز فى المناطق العليا من الكروماتوجرام ، ويطلق على المادة الحاملة (مادة الادمصاص) والمذيب الملتصق بها بالوجه غير المتحرك أو النظام الثابت Stationary (Immobile) Phase ، بينما يطلق على المذيب العضوى للمخلوط بالنظام أو الوجة المتحرك Mobile Phase .

ويحسب معامل التوزيع (لمادة ما فى الخليط) بين نظامى الكروماتوجرافى المتحرك والثابت كالتالى :

معامل التوزيع Partition Coefficient (K)

$$= \frac{\text{التركيز الجزئي للمادة في النظام المتحرك}}{\text{التركيز الجزئي للمادة في النظام الثابت}}$$

$$\text{معامل التوزيع الفعال } (B) = \frac{\text{الكمية الكلية للمادة فى النظام المتحرك}}{\text{الكمية الكلية للمادة في النظام الثابت}}$$

حيث إن $B = K \frac{V_m}{V_S}$

وإن V_m ، V_S هما حجما النظامين المتحرك والثابت على التوالى . ويتحكم الوزن الجزيئى ونوع جزيئات المادة فى كيفية توزيع جزيئاتها ، وإن كان معامل التوزيع واحداً نجد أن الكمية التى تذهب إلى كل من النظامين الثابت والمتحرك واحدة . فيؤدى اختلاف معامل التوزيع إلى تغيير فى مكان وجود المادة على الكروماتوجرام ؛ لذا فمن المهم فى اختيار المذيبات ومادة الادمصاص أن تعطى قيما متباينة لمعامل التوزيع للمواد الموجودة فى الخليط فيكون الفصل أوضح .

ثالثاً : التحليل الكروماتوجرافى بتبادل الأيونات :

وهو عبارة عن تحليل كروماتوجرافى بالادمصاص ، إلا أنه فى الادمصاص فإن الفصل يتم بالقوى الرابطة السطحية ، وهى غير قابلة لحمل شحنات Apolar ، بينما فى نظام تبادل الأيونات نجد أن الفصل يتم بواسطة قوى كهربائية كيماوية ، قابلة لحمل الشحنات polar وهى ترتبط برقم الحموضة PH ، إذ تتفاعل المادة الحاملة مع المادة المراد فصلها بفعل قوى كيماوية (توزيع تنافسى) ، يحدث فيها تبادل بين أيونات أو كاتيونات المحلول مع السطح الصلب للمادة الحاملة ، فينتج عن ذلك تركيز هذه المادة أو تلك ، وهذا النظام كسابقيه يطلق عليه كذلك كروماتوجرافى عمودى ، إذ تكون فيه المادة الحاملة معبأة فى أعمدة .

وتعرف السعة التبادلية بأنهاعدد المليمكافئات من الأيون الممتص لكل ١٠٠جم من

المادة الماصة ، وتختلف السعة التبادلية باختلاف المادة الممتصة ، فهى صفر لكربونات الكالسيوم ، وضعيفة فى معادن الطين ، ومرتفعة فى المبادلات التخليقية مثل الراتنجات المخلقة Synthetic Resins ، إذ تصل ٢٠٠–١٠٠٠ ملليمكافىء / ١٠٠جم . والأيونات المتبادلة تكون متكافئة أى أن كل وزن مكافىء / جم يمتص على السطح يخرج بدلا منه وزن مكافىء / جم من الأيونات الموجودة على السطح ، كما يحتفظ الأيون الممتص على السطح بشحنته الكهربائية ، وتتحرك الأيونات بحرية على سطح المبادل وهى متقيدة بنفس حركة المبادل نفسه ، فحركتها اهتزازية ، أو تأرجحية فى مدى معين ، ولكن ليست حركة انتقالية .

وتتميز المبادلات التخليقية Synthetic Ion Exchange Resins بقدرتها العالية جداً على التبادل ، وثبات عال على جميع قيم PH ، ودرجة حرارة تصل ١٠٠°م ، وعدم القابلية الكلية للذوبان فى المذيبات العضوية ، وتتوقف هذه المزايا أساساً على طبيعة التركيب الشبكى والروابط المستعرضة Cross - Linked Skelton لهذه المبادلات .

وتحتوى الراتنجات ذات التبادل الأيونى على مجاميع فعالة حامضية مثل الكربوكسيل (COOH) أو الكبريتوز (HSO_3) ، أو قاعدية مثل الأمين(NH_2) ، وتسمى المبادلات ذات المجاميع الحامضية بالراتنجات ذات التبادل الكاتيونى ، تمييزاً لها عن الراتنجات ذات التبادل الأنيونى المحتوية على مجاميع قاعدية . ومن أمثلة الراتنجات ذات التبادل الكاتيونى Dowex - 50 ومن الراتنجات ذات التبادل الأنيونى Dowex - 1 .

ولتفهم عمل الراتنجات ذات التبادل الأيونى ، فإنه يمكن اعتبارهم مجاميع حامضية وقاعدية فعالة ومركبة وغير ذائبة ، فمثلاً عند إمرار محلول يحتوى على أملاح الأمينات فى أنبوبة محتوية على راتنجات ذات تبادل كاتيونى ، فإن هذه الراتنجات تأخذ كاتيونات الأمينات من المحلول لتحل محل كاتيون الهيدروجين منها ، ثم تسترد الأمينات الممتصة على سطح الراتنجات بغسلها بمحاليل أكثر حموضة فيمكن جمعها نقية ، كما يمكن الحصول عليها منفردة نقية عند غسل الراتنجات بمحاليل متفاوتة فى درجة الحموضة .

هذا ويستعمل فى التحليل الكروماتوجرافى بتبادل الأيونات مواد عضوية وغير عضوية ، فمن أمثلة المواد الغير عضوية سليكات الألومنيوم Zoelitte الطبيعية والصناعية ، ومنها كذلك أكسيد الألومنيوم القلوى والحامضى ، ويستخدم أكسيد الألومنيوم القلوى الشديد فى تبادل الكاتيونات ، وبمعاملته بزيادة من الحامض ثم الغسيل بالماء يصير متعادلاً بالنسبة لدليل أحمر كونغو Congo Red فينتج أكسيد الألومنيوم الحامضى ، فيكون مناسباً لتبادل الأيونات ، إلا أن مواد التبادل الأيونى العضوية أصبحت الآن هى المستخدمة فقط تقريباً فى أغراض التحليل الكروماتوجرافى ، وكلها مشتقات Derivatives من البوليستيرولات ، ويوجد

منها ثلاثة أنواع :

١ ـ مواد تبادل أيونى حامضية : وهى مواد تبادل كاتيونية لها القدرة على تحليل الأملاح (لشدة حموضتها) ، حيث يتحد الكاتيون مع مادة التبادل ، فى حين أن الأنيون يمكن إزالته فى صورة حامض مع ماء الغسيل ، ولهذه المواد سعة تبادل مقدارها حوالى ١,٤ مليمكافئ / ملليلتر .

٢ ـ مواد تبادل أيونى قلوية ضعيفة : وهى مواد تبادل للأنيونات لا تحلل الأملاح أو تحللها جزئياً ، لها سعة تبادل مقدارها حوالى ١,٢ مليمافئ / ملليلتر .

٣ ـ مواد تبادل أيونى شديدة القلوية : تحلل الأملاح (لشدة قلويتها) حيث تتحد الأنيونات مع مادة التبادل بينما تخرج الكاتيونات (كقلوى حر) بالغسيل ، لهذه المبادلات سعة تبادل حوالى ٠,٧ مليمكافئ / ملليلتر .

ويمكن تنقية هذه المواد الثلاث وإعادة استعمالها باستخدام محلول ٦٪ HCl فى المواد الأولى ، ٥٪ NH_3 OH للمواد الثانية ، ٤٪ NaOH للمواد الأخيرة ، بنسبة ٣–٤ أحجام / حجم واحد من المادة يليها الغسيل بالماء المقطر ، وتستبعد المواد الغروية الممتصة باستخدام كحول ميثايل أو أسيتون .

المواد الممكن فصلها بالطرق الكروماتوجرافية :

١ ـ يجب أن تكون منتشرة سواء فى الصورة الأيونية أو الجزيئية ، وألا يحدث لها تجمع Coagulation مع بعضها ، وتكون قادرة على الانتشار فى نظام المادة المنتشرة الذى تم اختياره .

٢ ـ لو كانت فى صورة غازات ، أو لو أمكن تحويلها لمشتقات سهلة التحويل لغازات فيمكن فصلها بواسطة Gas Chromatography .

٣ ـ المواد الذائبة يمكن فصلها بواسطة Liquid Chromatography .

٤ ـ المواد غير الذائبة وغير الموجودة فى حالة طيارة Volatile ، أو المواد التى يحدث لها تكسير أو تغيير فى صفاتها الكيماوية وتتحلل بواسطة المذيبات المستخدمة فلا يمكن فصلها، وذلك مثل الأحماض النووية DNA ، RNA .

أجهزة الفصل الكروماتوجرافي

أولاً : التحليل الكروماتوجرافى الورقى Paper Chromatography :

أساس فكرة الكروماتوجرافى الورقى يمكن إيضاحها بافتراض أن نقطة من محلول لمخلوط من عدة مركبات قد وضعت على ورقة ترشيح (الوجه أو النظام الثابت

obeikandi.com

للكروماتوجرافى الورقى) وتركت لتجف ، وأن هذه الورقة قد غمس طرفها المحتوى على النقطة فى مذيب ما (نظام أو وجه متحرك) ، فإن المذيب سوف ينتشر لأعلى فى الورقة بالخاصية الشعرية ، أو لأسفل بفعل كثافته ، وعليه فإن مركبات نقطة المحلول سوف تنتشر مع المذيب على ورقة الترشيح إلى مسافات تتوقف على درجة توزيع كل منها فى المذيب . وهذه الطريقة تتبع نظام التحليل الكروماتوجرافى بالتجزىء (بالتوزيع) باستخدام الورق الذى يحل محل المادة الحاملة فى أعمدة الكروماتوجرافى بالتجزىء .

بعد سريان المذيب فى ورقة الترشيح مسافة مناسبة ، ترفع الورقة وتجفف ، وتعامل بمادة تترك لونا لتحديد مكان المركبات المختلفة فى المخلوط الأصلى ، وعلى هذا فسوف نجد أن هذه المركبات تقطع مسافات مختلفة ، وبذلك يحتل كل مركب وضعاً معيناً على الورقة فى اتجاه سريان المذيب ، ومن القواعد الواجب مراعاتها فى هذا الجهاز :

١ ـ ورق الترشيح المستعمل Paper :

ويتميز بالتركيب الليفى له ، وليس بتركيبه الكيماوى ، ويجب اختيار الورق الذى يتناسب مع طبيعة المادة التى يراد فصلها ، كما يجب إزالة أى شوائب بالورق ، وذلك بغسله بحامض هيدروكلوريك فتذوب الشوائب ثم تغسل بالماء ، كما يجب التخلص من الدهون بالورق بغسيله فى الإيثير ، والورق القياسى شائع الاستعمال هو Whatman 1 and 2o346 Schleicher & Schull ، وهو مصنوع من اللنترز Linters (أو السليلوز أو مخلوطهما) .

ويستخدم واتمان رقم (١) فى الأغراض العامة (هو مناسب كذلك فى Paper Electro-phoresis) وهناك كذلك الورق المصنوع من السليلوز ، فمنه S & S, no. 602 b والورق المصنوع من الصوف الزجاجى ، ومنه Whatman GF/A, GF/B , GF/C, S & S, no. 6,8

ومن الورق ما هو محب للماء Hydrophilic ويستخدم فى فصل المواد الدهنية .

وأبعاد الورق عادة أفرخ مقاس ٥٨×٥٨سم أو ٥٨×٦٠سم ، ويستخدم عادة فرخ الورق أو أشرطة منه أبعادها حوالى ٣×٥٠سم أو ٤٥×٥٥سم ويراعى عدم ملامسته لورق مستعمل أو لأدوات سبق استخدامها ، مع عدم مسك الورق إلا من الحواف لتجنب تلوثه ، كما يحفظ بعيداً عن أبخره المعمل .

٢ ـ وضع العينات على ورق الترشيح Spoting :

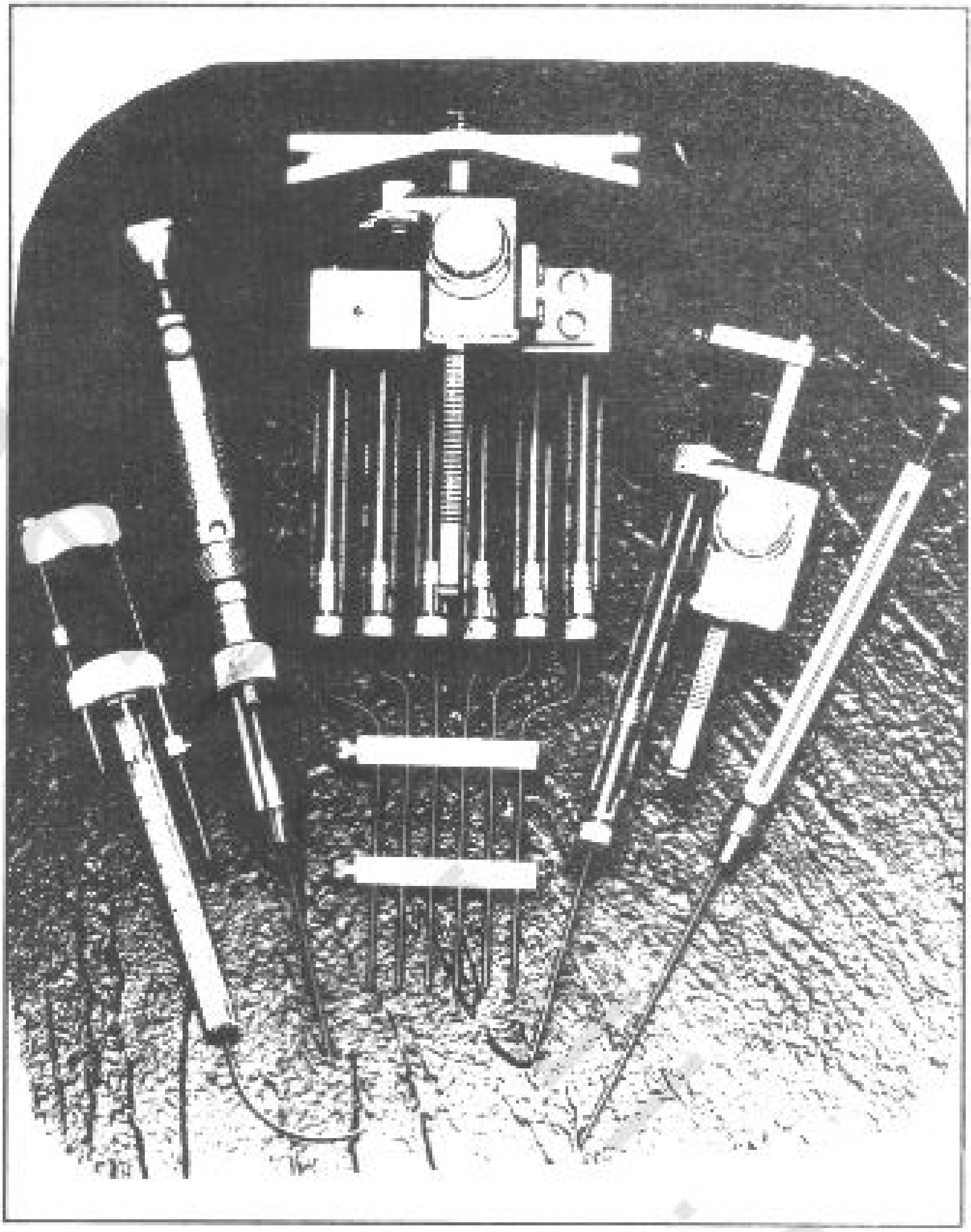
من المهم أن يكون حجم العينة على الورق صغيراً فلا يتعدى قطر نقطة العينة ٥م ، وتوضع بواسطة ماصة ميكرولترية (١-١٠ ميكروليتر) على بعد بضعة سنتيمترات (٢-٥سم) من حافة الورق السفلية ، والورق فى وضع أفقى تماماً (بوضعه على لوح من الزجاج) ، وذلك برسم خط بالرصاص على بعد على الأقل ٢,٥سم من الحافة السفلى

يسمى خط الابتداء ، توضع عليه نقط محاليل العينات ، تترك النقطة لتجف بالأشعة تحت الحمراء ، أو بالهواء الساخن ، والأفضل بهواء الغرفة ، وإذا لزم الأمر وضع العينة على دفعات فيجب أن تجفف بعد كل إضافة ، والمسافة بين كل نقطتين ٢,٥سم ، ويراعى خلو العينة من الأملاح ، لأنها تتدخل فى عملية الفصل ، فتزال بالتبادل الأيونى أو بالطرد المركزى العالى أو اليكتروليتيا Electrodialysis ، كما يجب أداء تجارب مبدئية لانتخاب أنسب أنواع الورق ومخلوط المذيب .

٣ ـ تحضير العينة Preparation of Sample :

العينات الصلبة تذاب فى مذيب عضوى مناسب منخفض فى درجة الغليان مثل الأسيتون ، إيثانول ، كلوروفورم ، تركيز العينة فى المذيب يكون على الأقل ٠,١ – ١,٠٪ ، وتكون كمية المادة المختبرة ١–١٠٠٠مجم ، وهذا يتوقف على حساسية الطريقة المستعملة وكذلك على الغرض من التحليل . هذا ولابد من استخلاص وإزالة الشوائب Removal of Ballast من العينة ، لما لهذه المواد من تأثير غير مرغوب على التحليل الكروماتوجرافى ، وعلى الأخص منها البروتين ، الليبيدات ، الأيونات غير العضوية .

(شكل ١٢) سرنجة سعة ١٠ ميكرولتر للاستخدام الكروماتوجرافي



(شكل ١٣) نماذج لسرنجات ميكرولترية تستخدم في حقن أجهزة الكروماتوجرافي

وقد نلجأ لتحضير مشتقات للمركب المراد تقديره وذلك فى بعض الحالات مثل :

أ ـ المواد الطيارة تحول إلى صورة غير طيارة (كحولات ، الدهيدات ، كتيونات) .

ب ـ المواد التى لايمكن ملاحظتها على الورق الكروماتوجرافى لكن يمكن ملاحظة مشتقاتها Derivatives .

جـ ـ فى حالة المشتقات التى يسهل فصلها على الورق عن المادة الأصلية .

٤ ـ التطوير Development : ويتم بعدة طرق :

أ ـ نظام السريان الهابط Descending : وفيه يسمح للمذيب بالسريان فى اتجاه واحد على طول ورقة الترشيح (فى اتجاه الجانب الطويل الذى يكون عنده انسياب المذيب أسرع ما يمكن وهو اتجاه السهم على حواف الفرخ ، أو اتجاه الطرف البيضاوى لنقطة ماء إذا وضعت على الفرخ) إلى الاتجاه السفلى ، وذلك نتيجة وضع الطرف الأعلى لشريط الورق الذى به نقطة العينة فى مجرى Trough يحتوى على المذيب ومعلق فى حوض محكم القفل ، وعند فصل مواد بطيئة الحركة يمكن شرشرة الورقة من أسفل لزيادة مساحة مقطعها وسهولة تساقط المذيب . هذه الطريقة هى الأكثر شيوعاً واتباعاً وفيها يقطع المذيب مسافة طويلة فيتم الفصل أسرع ، وجود أيونات حديد أو نحاس بالورق يؤدى إلى اسوداد طرف الورق المنتشر عليه المذيب ، ولتجنب ذلك يضاف ١ ,٠جم سيانور صوديوم .

والأحواض عادة تصنع من الزجاج إلا أنه ممكن صناعتها من الصلب أو البلاستك ، وتختلف أنواع الأحواض أو التنكات Tanks باختلاف الغرض من الفصل الكروماتوجرافى وطريقة التطوير .

ب ـ نظام السريان الصاعد Ascending : وفيه يسمح للمذيب بالسريان فى اتجاه واحد على طول ورقة الترشيح إلى الاتجاه العلوى ، وهذه الطريقة تعطى نتائج أحسن من الطريقة السابقة وأبسط فى الأداء ، وفيها تقل سرعة سريان المذيب عادة بعد مسافة ٢٥سم ، لسريانه ضد الجاذبية الأرضية ؛ لذا توقف عملية التحميض عند هذا الارتفاع ، وفيها تشكل ورقة الترشيح فى صورة اسطوانة قطرها عادة ١٥سم .

يحدث اسوداد مقدمة المذيب المنتشر على الورقة كما فى الطريقة الهابطة ، وتمتاز هذه الطريقة أنها لا تحتاج إلى جهاز معين ، إذ يمكن استخدام أنابيب اختبار ، أو مخابير ، أو اسطوانات ، أو دوارق مخروطية (لها سدادة بها شق لتعلق بهذا الشق الطولى ورقة الترشيح) ، أو تستخدم نفس تنكات الطريقة السابقة دون استعمال الأحواض Troughs ، وتعلق الورقة بالعينة خلال الغطاء أو يمكن إيقافها على قاع التانك أو بإدارتها على اسطوانة ممسوكة معاً بمشابك بلاستك .

جـ ـ الكروماتوجرام المستمرة : وهى طريقة شبيهة بالطريقة الهابطة ، لكن يستمر المذيب فى الانسياب إلى ما بعد نهاية الورق لمدة ٤٨-٧٢ ساعة ، وذلك للفصل الجيد للبقع فى حالة انخفاض قيمة R_F ، وهنا لايمكن تقدير R_F ، بل يعمل كروماتوجرام مقارنا للمادة المتوقعة ، وتقاس المسافة التى قطعتها المادة المعلومة وبقسمة المسافة التى قطعتها المادة المجهولة على المسافة التى قطعتها المادة المعلومة تستخرج قيمة R_g ، وفى هذه الطريقة لايسود طرف الورقة .

د ـ الطريقة الصاعدة الهابطة : وهى خليط بين الطريقتين الهابطة والصاعدة ، إذ تعلق الورقة على قضيب زجاجي بحيث يغمر الطرف الأول فى المذيب فيصعد بالخاصية الشعرية، ثم يمر على القضيب ، ثم يهبط فى الطرف الآخر .

وهذه الطرق الأربعة كلها فى اتجاه واحد ، أى أن المذيب يسير فى اتجاه واحد One - Dimensional .

هـ ـ أن يتم سريان المذيب فى اتجاهين Two - Dimensional : وذلك فى مخلوط مركبات معقد باستخدام مذيبين مختلفين أحدهما قاعدى والآخر حامضى ، وفيها يكون الورق مربعا عادة ٢٠×٢٠سم أو أكبر فيطور فى المذيب الأول ثم يجفف ويدار بزاوية ٩٠ ويطور فى المذيب الآخر .

و ـ النظام الأفقى Horizontal Development : وهو المستخدم حديثاً ؛ لأنه يحتاج مسافات قليلة ، ويمكن للتانك من وضعه بسهولة فى المجففات أو الحضانات أو المبردات ، والتانك يصنع من زجاج ضحل ، ويوضع الكروماتوجرام أفقياً على قضبان زجاجية أو على ألياف صناعية .

فى النظام الأفقى يمكن وضع الورق بين لوحين من الزجاج أو الألومنيوم ، وخاصة فى حالة المواد المتطايرة كالفينولات ، ومن طرق التطوير الأفقى كذلك استخدام كروماتوجرام حلقى أو دائرى أو ما يسمى بالتطوير المتشعع ومنه :

١ ـ طريقة روتر Rutter : بعمل قطعين متوازيين على ورق ترشيح مستدير من المحيط ومتجهين إلى المنتصف ، ثم يثنى الشريط الناتج إلى أسفل بطول مناسب ، وتوضع نقطة من العينة المراد فصلها فى مركز الورقة ، ثم تجفف ، ويوضع طرف الشريط فى المذيب الموجود فى طبق تبرى ويغطى بطبق آخر فتتكون بقع على هيئة دوائر مركزية .

٢ ـ طريقة تسمرمان ونيرغ Zimmermann & Nehring : فتوضع ورقة ترشيح مستديرة بين مجفف زجاجي وبين غطائه المزود بفتحة ، فتوضع نقطة العينة فى مركز الورقة وتجفف ، ثم تسد فتحة غطاء المجفف بسدادة ينفذ منها سحاحة طرفها السفلى مسحوب شعرى بحيث تنقط ١٠–١٢ نقطة مذيب فى الدقيقة ، فتتكون البقع على هيئة كروماتوجرام حلقى أو بيضاوى ضعيف ، وهى طريقة سريعة ، وتحدد فيها قيمة RF بدقة ، ويقدر التركيز كميا باختبار فوتومترى للشريط .

٣ ـ طريقة بولرد Pollard : توضع فيها ورقة الترشيح المستديرة بين قرصين من الزجاج، مزود العلوى منها بثقب وتوضع نقطة العينة فى المركز وتجفف وتحمض .

٥ ـ اختيار مذيب التطوير Developing Solvents :

يستخدم عادة مذيبان أو أكثر من المذيبات العضوية ، ويراعى فيها أن تتحرك ببطء

لتعطي نقطاً مستديرة أقل انتشاراً ، ويتحكم كذلك نوع الورق (مساميته) المستعمل في اختيار نوع المذيب .

ومن أشهر المذيبات المستخدمة مخلوط Partridge ، وله رقم حموضة PH ٢,٩ ، ويتكون من البيوتانول : حامض الخليك ٩٦٪ : ماء بنسبة ٤ : ١ : ٥ ، ويختلف نوع المذيب باختلاف المواد المفصولة ، وتختلف نسبه حسب سرعة الفصل ، يعتمد الفصل بالتجزىء على معامل التجزئة بين مكونات خليط المذيبات ، وقد رتبت المذيبات العضوية (من حيث تكوينها لروابط هيدروجينية) فى قائمة كبيرة ، على رأسها المذيبات التى تعمل كحامل أو مستقبل لزوج الكترونات مكونة كبارى من الهيدروجين بين الجزيئات ، أى أنها محبة للماء Hydrophopic أو مذيبات قطبية Polar Solvents ، وفي نهاية هذه القائمة نجد المذيبات التى لا تتوفر فيها هذه الصفة ، أى أنها غير محبة للماء Hyrophobic أى محبة للدهون Lipophilic أو مذيبات غير قطبية Nonpolar Solvents ، فتمتزج المذيبات القطبية مع الماء ، أما غير القطبية فتكون طبقتين منفصلتين ، وفيما يلى قائمة المذيبات العضوية طبقاً لقطبيتها :

الماء ـ فورماميد ـ ميثانول ـ حمض خليك ـ إيثانول ـ أيزو بروبانول ـ اسيتون ـ بروبانول ـ فينول ـ بيوتانول ـ كحول إميل ـ خلات إثيل ـ إيثير ـ خلات بيوتيل ـ كلوروفورم ـ بنزين ـ تولوين ـ هكسان حلقى ـ إيثير بترولي ـ بترول ـ زيت برافين .

هذا ويجب أن يتوفر فى المذيبات المستخدمة في الكروماتوجرافى :

١ ـ أن تقوم بإذابة المواد المطلوبة .

٢ ـ أن تسمح بحدوث عملية الادمصاص الديناميكى ، لأنه لو لم تكن هكذا فإن الفصل لن يحدث .

٦ ـ التعرف على البقع (إظهارها) Identification :

فى العادة تجفف الورقة لإزالة آثار المذيب ، ثم تتم عملية إظهار البقع بغمر أو رش الورقة بمادة كيمائية تتفاعل مع المركبات المنفصلة لتعطى لوناً ، وطريقة الغمر أفضل ؛ لأنها لاتحدث رائحة نفاذه ، ولأنها اقتصادية ، ويتم الرش بواسطة زجاجة لها ثقوب صغيرة جداً ، أو زجاجات الضغط الهوائى Atomizers or Aerosol Sprays ويفضل أن يكون فى خزانة الغازات ، والرش لابد وأن يتم ببطء وبتجانس ، ومع ملاحظة ألا تحمل الورقة بأكثر من اللازم ؛ لأن الرش الكثيف يؤدى إلى انتشار وهجرة البقع .

ويتم التعرف على المركب المراد فصله بتحديد RF له ومقارنتها بقيمة RF للمحلول القياسي المعلوم Standard لنفس المركب ، وذلك لأن قيمة RF ثابتة للمركب الواحد لا تتغير في الظروف الثابتة ، وقيمة RF هذه عبارة عن عامل يتوقف على درجة توزيع المركب في المذيب ونوع المذهب المستخدم ودرجة الحرارة ؛ لذلك فإن استخدام RF في تحديد المركبات لايكون دقيقاً إلا تحت الظروف المحكمة ، وتقارن RF للمركبات تحت نفس الظروف .

بعد تحديد مكان المركب بقلم رصاص ، يتم تقديره كميا بقياس مساحة بقعة المركب، حيث يتناسب حجم البقع مع لوغاريتم تركيز المركب ، وبناء على ذلك فإن محلولي نفس المادة اللذين يحتلان نفس المساحة يكون لهما نفس التركيز (± ١٠ ٪ نسبة خطأ) ، وقد يمكن تقدير مساحة البقع بإجراء كروماتوجرام لمحاليل مختلفة ومعلومة التركيز ، وتقارن البقع المتكونة بالبقعة الخاصة بالتركيز المجهول ، وتقدر مساحة البقعة إما بالقياس أو بقطعها ووزنها ، وقد تستخدم الطرق الضوئية Photometric لتقدير تركيز البقع ، فتغمر الورقة لمدة ٥ دقائق في مخلوط من الفا ـ برومونفثالين Alfa - Bromonaphthalin مع البرافين السائل والـ DAB بنسبة ١ : ١ : ١ حيث يصير الورق شفافاً ، وبعد التجفيف تقاس البقع بمساعدة جهاز فوتومتري لقياس الكثافة الضوئية ، أو أن تستخلص بقعة المركب ، وتقدر كثافة اللون وبالتالي التركيز في المستخلص بواسطة جهاز مناسب لقياس الألوان Colorimeter .

وقد يكشف عن المركب بفحص الكروماتوجرام بالنظر في الضوء المرئي (للمركبات الملونة) ، أو باستخدام الضوء فوق البنفسجي (بعد تبريد أو تسخين الكروماتوجرام) ، أو بالطبع لتسجيل موقع البقع ، أو باستخدام طرق الكشف الإنزيمية أو البيولوجية ، أو تستخلص البقع وتقدر كميا بوسائل فوتومترية ، وقد يستخدم الاستقطاب أو الامتصاص أو قياس الإشعاع كوسائل للتقدير الكمي للمركبات المفصولة .

وقد يتبع في الكروماتوجرافي الورقي التطوير العديد أو المضاعف Multiple Development ، بتكرار التطوير في نفس الاتجاه أكثر من مرة لتمام فصل مركبين أو أكثر ارتبطا معا بقيم RF واحدة ، باستخدام نفس نظام المذيبات أو أنظمة أخرى ، وقد يستخدم التطوير في اتجاهين ، وهو كالنظام السابق مع فارق أن ورق الكروماتوجرام يكون مربعاً ، والعينة توضع في أحد الأركان ، والتطوير الثاني في اتجاه عمودي على اتجاه التطوير الأول ، مع اختلاف نظام المذيبات في كلا الاتجاهين .

إذا أعطى النظام المستخدم في التطوير قيم RF منخفضة (٠,٠٢ — ٠,٢٠) ، فإنه يجرى تطوير آخر بعد قصقصة الطرف السفلي للورق في شكل أسنان المنشار Saw Tooth Fashion (بين كل سنة وأخرى ٢سم عرض) ، وتطور تنازلياً أو بالطريقة الهابطة Descending

ويستمر التطوير حتى بعد بلوغ المذيب للنهاية السفلى للورق لبعض الوقت .

ولحفظ الكروماتوجرام فإن بقع المواد مع النهيدرين Ninhydrin تتفاوت في ثباتها ، فتختفي بقع الأحماض الأمينية مع النهيدرين في ظرف ٢-٣ أيام ، لذا فترش للتثبيت بمحلول نترات نحاس ، أما بقع السكريات فتدوم لمدة أطول .

ومن الجدير بالذكر أن مولد الكروماتوجرافي الورقي جاء نتيجة أبحاث الكيماويين الإنجليزيين (١٩٤١-١٩٤٤) باستخدام ورق الترشيح كوسط حامل ، ونتيجة هذا الاكتشاف حصل العالمان الإنجليزيان Martin & Synge على جائزة نوبل للكيمياء عام ١٩٥٢ .

ثانيًا : التحليل باستخدام الجهد الكهربي Electrophoresis :

يحتمل أن يكون الإليكتروفوريسيس هو أقدم أشكال التحليل بالهجرة Migratory Analysis ، خاصة أن هذا التكنيك هو ألطف الطرق معاملة بالمواد التي يفصلها ، وقد تعددت استعمالاته في نهاية القرن التاسع عشر ، فقد أثبت Kendall (١٩٢٣-١٩٢٨) في دراسته للخواص الكهربية للغرويات إمكانية تحليل القلويدات والأراضي الخفيفة بواسطة الإليكتروفوريسيس ، كما تمكن Tiselius من تطوير أول طريقة لفصل البروتين بالإليكتروفوريسيس ، ومن ١٩٤٨ فصاعدًا وفي ظل التطور السريع للكروماتوجرافي نشأت اقتراحات بتثبيت الكتروليتات للإكتروفوريسيس على موصل ثابت .

الإليكتروفوريسيس (سمي قديمًا Cataphoresis) يشير إلى حركة الجزيئات المشحونة Charged Particles في حقل كهربي ، بينما يشير الأيونوفوريسيس Ionophoresis إلى حركة الأيونات الصغيرة Small Ions ، ويعمل الإليكتروفوريسيس في وسط حر أو مرتبط ، وهو شديد الارتباط بالتوصيل الكهربي في الإليكتروليتات ، وقد اقترح Debye & Hückel تصورًا لسلوك الإلكتروليتات القوية عند انخفاض التركيزات ودعم هذا الاقتراح بقوانين الهجرة للإكتروفوريسيس .

ورغم أن أيونات المحلول الإلكتروليتي تنجذب للأيونات ذات الشحنات المخالفة وتتنافر مع الأيونات ذات الشحنات المماثلة ، فإن التنشيط الحراري يؤدي لعشوائية توجيه الأيونات في الوسط الكهربي .

ويشترط في الوسط الارتكازي المثالي أن يكون شفافًا ذا خواص ميكانيكية لتسهيل التناول ، وأن يكون رخيصًا وغير سام وثابتًا ، وقد يكون في صورة شرائط Sheets أو حبوب Granules أو جيل Gels ، والأشرطة قد تكون ورقًا (Paper Electrophoresis) أو أغشية من(Cellulose Acetate) ، وتمتاز هذه الأوساط بارتفاع نسبة المسطح إلى الحجم ، أما الحبوب أو الأوساط الحبية فقد تكون من مسحوق السليلوز Cellulose Powder ، أو مسحوق

كلوريد عديد الفنيل Poly Vinylchloride Powder ، أو نشا محبب Granular Starch وكلها تجهز في شكل كتل أو مكعبات ، والجيل يوجد منه Silica Gel وكذلك Agar Gel والنشا وأيضاً Polyacrylamide Gel .

وقد استمر استخدام اصطلاح التحليل اللوني الكهربي Electrochromatography للإشارة إلى التحليل بالتفريد الكهربي Electrophoretic Procedures ، سواء الورقي أو العمودي (منذ عام ١٩٤١) ، وهو لصيق الصلة بالتبادل الأيوني والكروماتوجرافي رقيق الطبقة .

وأهم تكنيك هو التفريد الكهربي الورقي ، لأنه الأكثر انتشاراً ، ويتركب جهاز التفريد الكهربي من أهم جزء وهو شرائط الورق Strips of Filter Paper ، وغالباً تكون مقاساتها ما بين ٣٠–١٠٠سم طول ، ٣–١٥سم عرض . تبلل الشرائط هذه بمحلول إليكتروليتي . وكمية هذا المحلول الممتص في حالة التفريد الكهربي عالي الجهد الكهربي High - Voltage Electrophoresis تساوي تقريباً الوزن الجاف للشرائط ، بينما تتضاعف الكمية في حالة انخفاض الجهد، وتمتص شرائط Acetylcellulose أو Thin Layers of Cellulose Powder حوالي ٤ أضعاف وزنها من المحلول المنظم Buffer .

توضع العينة المختبرة في شكل خط Streak في الزاوية اليمنى للمحور الأطول للشريط ، ثم يسمح بمرور الجهد الكهربي للنهايتين .

وسواء كان الجهد المتحدر المستعمل عالياً (٥٠–٢٠٠ فولت / سم طول شريط) أو منخفضا (٢–١٠ ف/سم) ، فإنه يعتمد على طبيعة المادة المختبرة ، وكقاعدة عامة فإنه يمكن القول بأن المواد ذات الوزن الجزيئي المنخفض تنفصل أفضل عند منخفض جهدي عال ، بينما المواد مرتفعة الوزن الجزيئي يناسبها انخفاض متحدر الجهد .

ومن جهة أخرى ، فإن المواد مرتفعة الوزن الجزيئي تنتشر ببطء جداً ، وعليه فالهجرة السريعة غير مناسبة ، علاوة على أن أكثر المواد مرتفعة الوزن الجزيئي يعيقها ورق الترشيح عن الهجرة بارتفاع الجهد ، وتسبب ضعف الفصل ، لذا يفضل معها استعمال الجهد المنخفض .

والتفريد الكهربي باستخدام ورق الترشيح والمواد الشبيهة له نظامان ، إما باستخدام :

١ ـ التفريد الكهربي بارتفاع الجهد الكهربي :

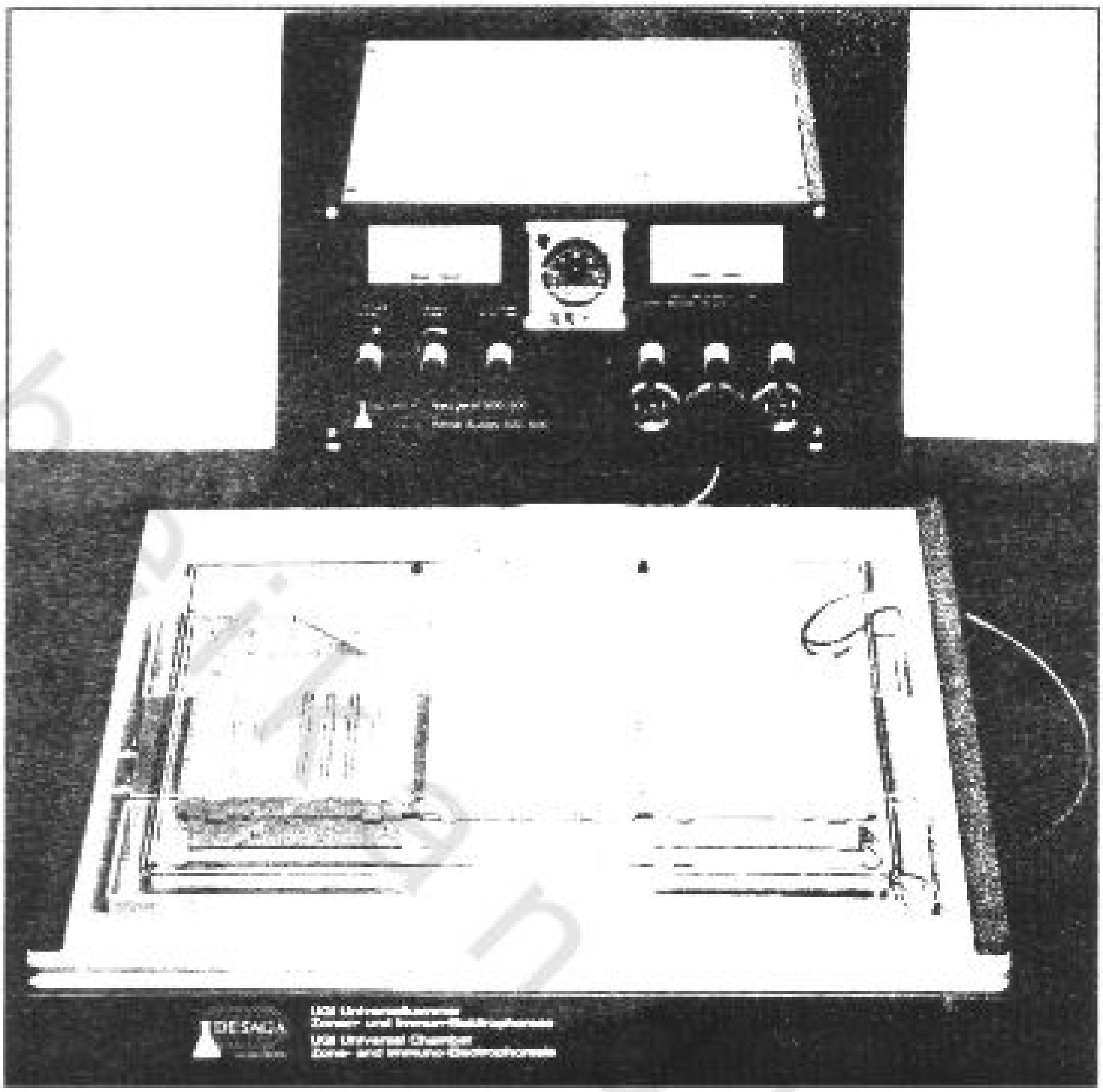
High-Voltage Electrophoresis

رغم أن هذا النظام أدخل حديثاً إلا أنه واسع الانتشار حالياً . وسنكتفي بأمثلة مختارة للتطبيقات عليه .

تزداد نسبة الهجرة أو السريان للأيونات بزيادة خطية زيادة المتحدر الجهدي ، لكن تؤدي

الحرارة لزيادة مضاعفة ، وعليه فعندما يزيد المنحدر الجهدي من ٥ فولت / سم إلى ١٠٠ فولت / سم فإن المناطق ستهاجر أسرع عشرين ضعفاً ، لكن كمية الحرارة الناتجة في الشريط ستزيده إلى ٤٠٠ مرة ، فزيادة الحرارة ١ْ م تزيد الهجرة بمعدل ٣ ٪ . ولتجنب التشويش في المناطق Zones فإنه يجب انتقال الحرارة بتجانس وتماثل خلال كل مساحة الشريط وألا تزيد الحرارة في مكان ما . بانخفاض الحرارة تزيد اللزوجة للمحاليل الإلكتروليتية مما يتطلب منحدر جهدي عال للتغلب على هذه الظاهرة .

الأجهزة ذات المبادلات الحرارية الصلبة Apparatus With Solid Heat Exchangers في هذا النظام من الأجهزة تنتقل الحرارة إلى صفائح باردة لها خاصيتان ، إذ تمتاز بالتوصيل الحراري الجيد Good Thermal Conductivity مع رداءة توصيلها الكهربي Electrical Insulators ، ومنها الزجاج والبلاستك (وإن كان البلاستك أسهل في استعماله إلا أنه يميل لارتفاع الحرارة في بعض المواضع) ، والجهاز مكون من رقيقة معدنية معزولة كهربياً ويسري تحتها ماء جار أو ماء ملح مبرد (بواسطة سربنتينة) ، وعليها رقيقة زجاج سليكون مثبتة إليها وعليهما رقيقة أخرى من الزجاج ، وبين رقيقتي الزجاج يوضع شريط ورق الترشيح ، وفي نهاية السطح البارد يوجد إناء المحلول المنظم المتصل بالإلكترودين (نحاس / كلوريد نحاس) بواسطة قنطرة ، وكل هذه المكونات في إناء بلاستك ، ويحتاج هنا إلى مصدر تيار مناسب يفضل ١٠٠٠٠ فولت على ١٠٠ ملي أمبير ، وفي بداية التجربة توضع شريط الورق المبلل على رقيقة الزجاج ، ثم يوضع عليها المادة المختبرة ، ثم يوصل شريط الورق وإناء المحلول المنظم بالتيار من خلال قطع أنابيب سلوفان مزودة بفتيل Wick من ورق ترشيح مبلل بمحلول منظم ، ويغطي شريط الورق برقيقة الزجاج الأخرى ، وتملأ أواني الإلكترودات والقناطر بالمحلول المنظم ويغطي الجهاز بالغطاء ويوصل التيار .



(شكل ١٤) جهاز تفريد كهربي (إلكتروفوريسيس)

ولبلل الورق أهمية تسهيل اتصال المحلول المنظم بالسطح المبرد ، ويجب أن تكون نسبة وزن الشريط الجاف إلى المحلول المنظم ١ : ٢-٢,٥ .

والبلل لازم لتعريض شريط الورق للضغط أو الكبس أو العصر ، إذ يصل الضغط في الجهاز إلى ١٥ رطل / البوصة المربعة .

وفيما يلي بعض المشاكل التي تعترض التفريد الكهربي بالجهد العالي :

الأعراض Symptoms	الأسباب Causes	العلاج Remedy
المناطق محددة بوضوح إلا أنها مشوهة Distorted.	عدم استواء أو انتظام التسخين - القوة الأيونية - PH - المحتوى المائي - عدم انتظام وتجانس تركيب الورق - عدم انتظام التجفيف .	يجب أن يكون الشريط سهل الاتصال بالسطح المبرد - انتظام الرطوبة - إزالة الملح ... يظهر الاتزان بعد تطبيق هذه الخطوات .
تكوين المناطق في شكل أهلة Crescents.	التبريد على حواف الشريط أقوى منه عند المركز .	اثني الشريط على الجوانب.
تبدو المناطق مبرقشة Mottled وملطخة أو مطموسة Blurred.	عدم كفاية التبريد - زيادة بلل السطح المبرد .	قلل توليد الحرارة - اجعل السطح المبرد جافا - اجعل المنحدر الحراري في الزاوية الصحيحة .
النسب الشاذة للهجرة.	تأثير الفتيل - انقطاع التيار - الاسموزية الكهربية خاصة بارتفاع PH - تخثر المنظم .	اختبر السد السلوفاني وقوة التيار - أضف مادة عديمة الحركة لكشف نقطة البدء .
جفاف الورق واحتراقه بدون دخان أو يصير الورق شفافاً مع مبادلات الحرارة السائلة .	عدم تغطية الورق تماماً خاصة عند قرب وعاء المنظم - اختلاف المنظمات في الشريط وأواني المنظم - تغيرات PH - عدم تشبع المبرد بالمنظم .	اعمل على تلاشي الأسباب المذكورة .

تأخير الفصل	التركيز الزائد من المادة المختبرة	ارفع القوة الأيونية للمنظم
عكس توجيه الهجرة .	امتصاص عدم تمام ذوبان المادة خدش الورقة .	اخفض قيمة PH أضف مذيباً عضوياً للمنظم جرب الورق زجاجي الألياف . جرب شرائط أسيتيل سليلوز أو رقائق السليلوز رقيق الطبقات. تلاشى الأسباب .
إهتزاز المناطق.	سببه نوع المذيب المذاب فيه المادة .	غير المذيب (مثلاً باستخدام كحول) .

ويستخدم التفريد الكهربي عالي الجهد في فصل خليط من أحماض أمينية أو الببتيدات أو نواتج الهدم الإنزيمي للبروتينات ، كذلك في الكشف عن الأحماض الأمينية للهيموجلوبين ودراسة الصبغات الخلوية المختلفة والليسوزومات ومختلف الأجسام النووية ، كما تنفصل بواسطة هذا التكنيك : الكربوهيدرات والكحولات والإستيرويدات ومخاليط الأيونات المعدنية كما أمكن الفصل الجيد للفينولات .

وتقاس مواقع بقع شرائط التفريد الكهربي بالتعرف على قيم معدل الهجرة Rate of Migration (Rm) ، وهي النسبة بين بعد أو مسافة كل أيون إلى مسافة أو بعد الأيون الأسبق على الشريط فيأخذ القيمة ١ (واحد صحيح) ، فتكون قيم Rm لباقي البقع أقل من الواحد الصحيح ؛ لأنها تنسب للمركب الأول .

٢ ـ التفريد الكهربي بانخفاض الجهد الكهربي :

Low - Voltage Electrophoresis

وفي هذا التكنيك يعلق ورق الترشيح أو شرائط خلات السليلوز بحرية ما بين أواني الإلكترود ، في فراغ رطب ، بتثبيت الشريط في إطار ، أو يعلق في وسطه بجعل طرفيه يتدليان فيكون في شكل حرف V مقلوبا ، يسحب شريط الورق المعلم عليه خط البداية خلال الإلكتروليت ، ثم يعلق لينقط في الجهاز ، وبعد ١٠ دقائق يزال الزائد من الإلكتروليت بقطعة من الورق ، ثم توضع العينة بفرشة رسم Paint Brush أو ماصة ، وتتولد الحرارة في الشريط نتيجة التبخير ، وأثناء التجربة يستمر تبخير الماء ويستمر امتصاص المحلول

المنظم من إناء الإلكترود ، وحيث إن التدفق يكون جهة الطرفين أكبر بينما ينخفض إلى الصفر جهة المركز ؛ لذا يوضع مخلوط العينة في المركز للشريط لتهاجر مكوناته لكلا الاتجاهين .

بعد انتهاء التجربة يجفف الشريط بحرص لتجنب تلف البقع نتيجة عدم انتظام تبخير الماء . يتم تلوين الشريط بصبغة في محلول كحول وحمض خليك وللتقدير الكمي على أجهزة قياس الكثافة الضوئية Densitometer تحول الشرائط لحالة شفافة باستخدام المواد التي تجعل ورق الترشيح شفافاً Transparentizers كزيت البارافين أو أحادي بروموانافثالين وغيرها.

خلاف الورق وخلات السليلوز فقد استخدمت مواد حاملة Carriers أخري كالجيل Gels ومنها سميت طريقة التفريد الكهربي على الجيل Electrophoresis in Gels ، وقد استخدم فيها نشا البطاطس .

وقد يستبدل جيل Polyacrylamide بدلا من النشا ، أو قد يستخدم الآجار Low - per-cent Agar في صورة Agarose Gels . وقد استخدم التحليل بالتفريد الكهربي على الجيل كثيرا في كيمياء البروتينات وقد يكون الجيل في أعمدة Gel Columns أو رقائق Gel Slab ، والعمود يسمى بالإلكتروفوريسيس الإسطواني Disc Electrophoresis وتميز المناطق عليه بعد التطوير بمنظار خاص للتقدير الكمي أو بالتصوير الفوتوجرافي . ويستخدم في الأعمدة هذه تيار حوالي ٥٠٠ فولت وشدة التيار ٠,٥ أمبير . وقد تكون أجهزة التفريد الكهربي إما أفقية أو رأسية أو في شكل حرف V مقلوبا .

ويستخدم جهاز الإيزوتاكوفوريسيس Isotachophoresis (أحد أنواع أجهزة التفريد الكهربي Electrophoresis) في فصل الأيونات المختلفة في حقل تيار مستمر طبقاً لاختلاف حركتها فيتعرف عليها نوعياً وتقدر مفرداتها بعد ذلك كمياً ، وبهذه الطريقة يمكن فصل وتقدير كل الإضافات الغذائية تقريباً ، بل يستخدم كذلك في فصل وتقدير مكونات اللحوم الهامة كالنيكلوتيدات ومساعدات الإنزيمات واللاكتات وثاني الفوسفات والسيترات وما شابهها من مركبات في منتجات اللحوم .

٣ - التفريد الكهربي مع وسيلة مناعة Immunoelectrophoresis :

إحدى طرق التحليل المركبة ، إذ يستخدم فيها الإلكتروفوريسيس مع طريق ثانية ، وهي هنا طريقة مناعية Immunological One . فيفصل خليط البروتين بالتفريد الكهربي على الآجار أو الأجاروز أو جيل النشا أو شرائط السليلوز (خلات سليلوز) ، ثم يوضع سيرم مضاد (محتويا على أجسام مضادة Antibodies معينة ضد المركبات المفصولة إليكتروفوريسيا من خليط البروتين) في قنوات أو أخاديد Grooves تجري بطول ممر الهجرة للبروتينات ،

فينتشر هذا السيرم المضاد للمركبات المفصولة ، وفي المناطق التي تتلاقى فيها الأنتيجينات Antigens مع الأجسام المضادة فترسب كل منهما الأخرى مكونة خطوطا ممرجة من الترسيبات ، يشير كل خط إلى نوع بروتين فيمكن تمييزه بطرق دراسة الدم والمصل Serologically ، أو بالطرق الكيموطبيعية Physicochemically .

ثالثا : الكروماتوجرافي رقيق الطبقات . ·

Thin Layer Chromatography (TLC)

نشرت أساسيات أولية في هذا التكنيك على يد عالمين روسيين (Ismailov & Schraiber) عام ١٩٣٨ باستخدام رقائق بسمك ٢م من أكسيد الألومنيوم ، وظل هذا التكنيك في عالم النسيان لصعوبة خفض سمك رقائقه حتى طورها Stahl عامي ٥٦ ، ١٩٥٨ فأصبح تكنيكا قياسياً منذ هذا الحين ، واستخدمت فيه المعادلات لمعايرة قياسات الانبعاث (Kufner & Schle, 1979) واستخدمت المادة الحاملة أو الثابتة على ألواح زجاج أو بلاستك أو ألومنيوم ويجرى التحليل كما في الكروماتوجرافي الورقي ، فهناك من الأجهزة التجارية للتطوير الصاعد Ascending أو الهابط Descending أو الأفقي Horizontal أو العديد Multiple وغيرها ، وقد فضل Stahl أن يكون السمك القياسي ٠,٢٥م للرقائق ، وهناك أجهزة تجارية لتفريد الوسط الحامل على الزجاج بسمك من صفر إلى ٢م ، ويقوم هذا التكنيك TCL بفصل مواد يصل كمها من ١٠ نانوجرام إلى ١٠ مللیجرام (بينما الرقائق المجهزة صناعياً Preparative تفصل كميات من ٠,١ إلى ١٠٠ نانوجرام حسب حجم الرقائق) .

ويتوقف اختيار الوسط الحامل Sorbent على حسب صفات المواد المفصولة إن كانت ذائبة في الماء Hydrophilic أو غير ذائبة في الماء Hydrophobic ، ثم صفاتها إن كانت حامضية Acidic أو قاعدية Basic أو متعادلة Neutral ، ثم احتمال تفاعلها مع المذيبات أو المادة الحاملة ، وعليه فتوجد المواد الحاملة التالية :

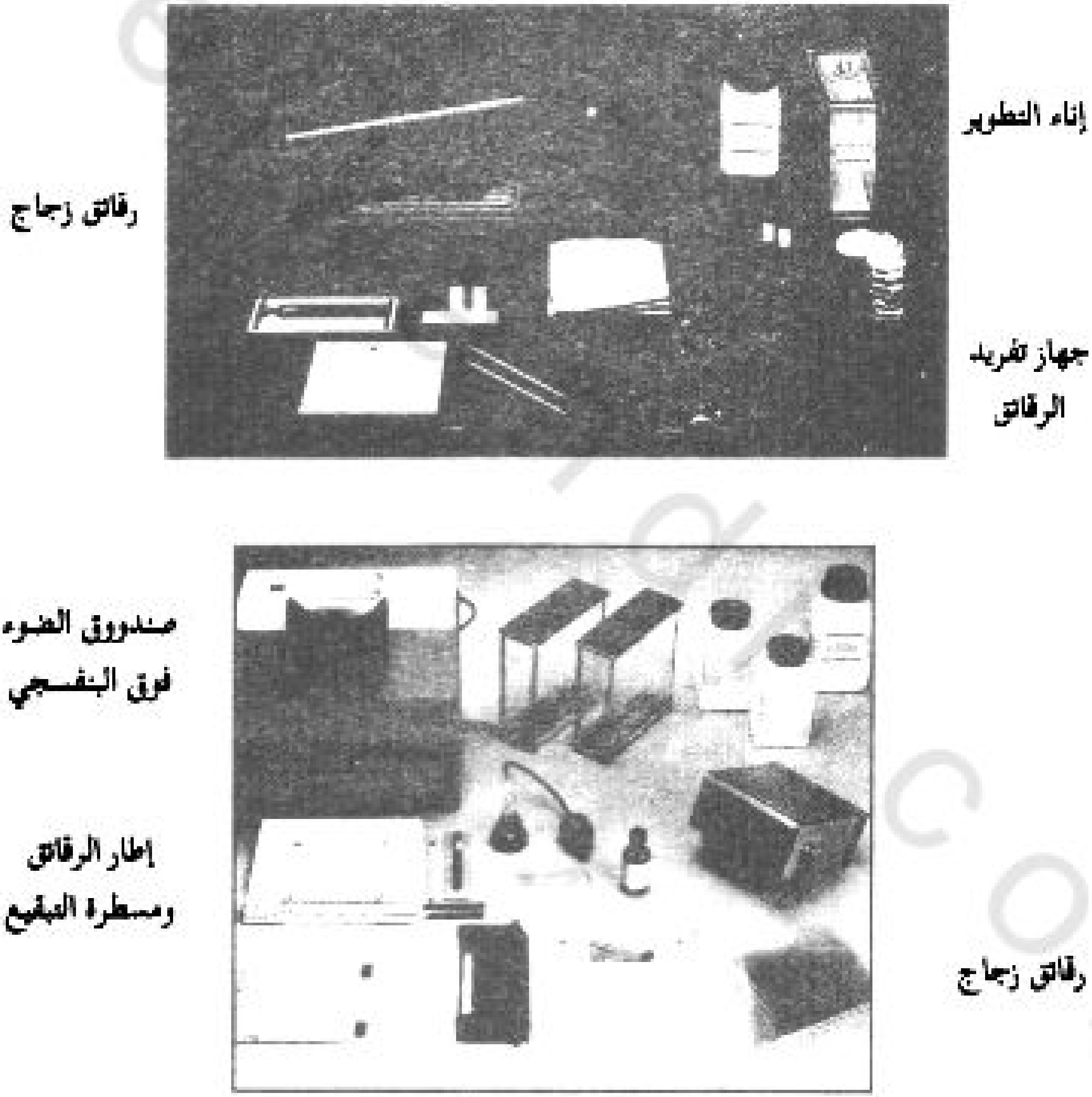
- للمواد المحبة للدهون Lipophilic : أكسيد ألومنيوم ، سليكاجيل ، سليلوز مأستل (خلات) ، بولي أميد .
- وللمواد المحبة للماء Hydrophilic : سليلوز ، سليلوز تبادل أيوني ، سيليت ، بولي أميد .

وفي حالة الشك يختبر أولاً استخدام السليلوز ثم طبقات غير عضوية ومقارنة نتائج الفصل .

وسبب الانتشار السريع لهذا التكنيك هو التقدم في تطويره عن باقي أساليب الكروماتوجرافي ، وقد تم التطوير أساساً في :

- اختصار زمن التطوير (٢-٦٠ دقيقة) .

- اختصار مسافة الفصل .
- فصل ممتاز .
- حساسية مرتفعة جدا (١٠-١٠٠ مرة أكبر من الكروماتوجرافي الورقي) .
- ضآلة حجم العينة اللازم للتحليل .
- سهولة التعرف على المركبات المفصولة .
- استخدام رقائق ألومنيوم بدلا من الزجاج .
- ضآلة حجم أواني وأنظمة التطوير .



(شكل ١٥) أدوات الفحص الكروماتوجرافي رقيق الطبقات

وقد يشار بجانب أسماء المواد الحاملة برموز تشير لمعاملة هذه المادة الحاملة ، فمثلا (G) تشير إلى وجود الجبس Gypsum (Ca S04) كمادة رابطة في هذا الـ Sorbent ، (N) عادي Normal بدون مادة رابطة ، (F_{254}) أي مضاف دليل فلورسنتي للقياس على ٢٥٤ نانومتر ، (UV_{254}) مضاف إليه دليل فلورسنتي يعطي فلورسنس أسفل UV بطول موجة UV 254nm) (366 + 254) مضاف إليه دليل فلورسنتي يعطي فلورسنس أسفل UV بطول موجة ٢٥٤ ، ٣٦٦ نانومتر ، (HR) عالي النقاوة Highly Pure ، (A) حامض Acid ، (B) قاعدي Basic ، وتوجد هذه الرقائق TLC - Plates بمقاسات ٢٠×٤٠ ، ٢٠×٢٠ ، ١٠×٢٠ ، ٥×٢٠سم (وهناك حتى ٢٠×١٠٠سم Pre - Coated Plastic Sheets) وحتى ٤×٨سم.

وأفضل تطوير يتم بضبط قيم R_F ما بين ٠,٢–٠,٨ وفي حالة تفريد مادة الادمصاص Adsorbents معملياً على رقائق الزجاج باستخدام الجهاز الخاص لذلك وهو TLC-Spreader ، يخلط قدر معين من هذه المادة الحاملة مع قدر معلوم (محدد من قبل الشركة المنتجة) من مذيب ، ويتم التجانس فترة محددة (موصى بها من قبل الشركة المنتجة) مع إضافة دليل فلورسنس (أو عدم إضافته) مع مادة رابطة ، وتغذى للجهاز بعد تحديد السمك المطلوب ، ثم تجفف الرقائق وتحفظ حتى استعمالها . وعادة تكون حجم حبيبات هذه المواد الحاملة مشابه لمثيلتها في الكروماتوجرافي العمودي ، كما أن المذيبات المستخدمة في تطوير TLC أو الأعمدة هي ذاتها .

ويستخدم للتطوير أواني تناسب مساحة الرقائق ، ويتم قياس تركيز المواد المفصولة فوتومتريا ، أو إشعاعياً (للمواد المشعة) أو تستقطع ، ويقدر تركيزها بواسطة Flame Ionization Detection أو اسبكتروفوتومتريا أو بالمقارنة مع تركيزات معلومة من محلول قياسي أسفل لمبات فوق بنفسجية (UV) .

وترجع مصادر الخطأ في TLC لحساسية هذا التكنيك عن الأعمدة لاتساع مسطح الرقائق ، فتكون عرضة لتأثيرات الجو وأبخرة المذيبات والأكسجين وغازات المعمل وخلافها، كما أن الظروف الأخرى التي قد تؤثر على الأعمدة كدرجة الحرارة يمكن إهمالها لصغر حجم العينة وكبر مسطح الرقائق ، فتتلاشى أثر اختلافات الحرارة . إلا أن الضغط الميكانيكي أحد المخاطر الكبرى على الرقائق فتؤدي لفقد الطبقة المدمصة فيفضل إضافة مادة رابطة كالجبس أو النشا أو المركبات العضوية المبلمرة Polymers ، وإن كانت تجعل المادة الحاملة غير صالحة للاستعمال لفترات طويلة ، كما قد تتفاعل مع المواد الأخرى ، ويجب تجفيف الرقائق الملصوقة معمليا بعيداً عن الهواء أو سحب الهواء ، وإلا تشققت الطبقات المدمصة . كما يجب حفظ تانك التطوير Developing Tank على حرارة ثابتة بعيداً عن المدفئة وضوء الشمس أو أشعتها .

تذييل Tailing البقع قد يرجع لواحد أو أكثر من المتغيرات الثلاثة الأساسية (المادة المدمصة ، المذيب ، المادة المختبرة) ، وهو دليل لعدم ملاءمة النظام المتبع ، لذا يغير هذا النظام باختيار نوع آخر من الطبقات المدمصة (سواء قاعدي ، حامضي ، متعادل ، نشط ، غير نشط) أو مذيب آخر . وإذا لم تتحرك المادة المختبرة عن خط البداية ؛ فيجب استخدام رقائق أقل نشاطاً أو مذيباً أكثر قطبية ، وإذا تحركت البقع بسرعة جداً ؛ فيستعمل رقائق أنشط أو ومذيب أقل قطبية لخفض قيمة RF . إن لم يتم الفصل جيداً فيجرى تطوير في اتجاه ثان أو يزاد مسافة الهجرة بإطالة فترة التطوير . إذا لم يتخذ المذيب على الرقيقة خطاً منتظماً فيتم تشبيع حيز التانك ببخار المذيب بوضع ورق ترشيح أو كارتون حول جدران الإناء ، فيتشرب بالمذيب ويشبع حيز الإناء ببخاره . ولمنع تداخل العينات يحزز طبقة الادمصاص بقلم معدنى أو سكين بطول الرقيقة ما بين العينات لتمام فصل مسار هجرة العينات عن بعضها بفصل طبقة الادمصاص في شكل شرائط .

واستخدم تكنيك TLC في الكثير من المجالات الصيدلانية والكيمياء الحيوية والصناعات العديدة لفصل العقاقير والأمينات العطرية والنيتروفينولات ومشتقات البيرين ، والفيتامينات الذائبة في الماء ، الباربيتيورات ، مورفين ، كوينين ، فضلات المضادات الحشرية ، المواد الملونة النباتية ، السموم الفطرية ، الأحماض الأمينية ، المضادات الحيوية ، الإستيرويدات وغيرها كثير جداً من كربوهيدرات ودهون .... إلخ .

ويتشابه TLC مع الكروماتوجرافي الورقي في تكنيك التطوير وكثير من التطبيقات وتكنيك التقدير الكمي ، ولكن يختلفا معاً في الوسط الثابت ، فالأول يستخدم المواد المدمصة Sorbents بفردها عشوائياً على رقائق زجاج أو خلافه ، بينما في الثاني فإن تركيب ورق الكروماتوجرافي الليفي يميزه عن TLC . وعموماً ولمزايا TLC العديدة سابقة الذكر فإنه ينافس الكروماتوجرافي الورقي ويفوقه بمراحل ، وذلك للتطور الشديد في صناعة أواني التطوير ، وفرد المواد الحاملة ومحاليل الإظهار ، والتصوير بل وآلية وضع العينات التطوير والتقييم والميكروتكنيك المؤدى لما يعرف الآن بالكروماتوجرافى رقيق الطبقة عالي الأداء High Performance Thin Layer Chromatography (HP TLC) أو النانو Nano-TLC ، وللتقدير الكمي داخل العلاقة الخطية (بين التركيز والامتصاص) لهذا التكنيك يلزم استخدام تركيزات صغيرة جداً ؛ لأن بزيادة التركيز عن مدى HP TLC تقل نسبة الامتصاص ولا يمكن القياس الكمي . أما القياس الطبيعي ففي المدى المرئي من أطوال الموجات (٤٠٠–٧٠٠ نانومتر) ، أو في مدى الأشعة فوق البنفسجية (٢٠٠–٤٠٠ نانومتر) بقياس المركبات الفلورستية بالحث بلمبة هالوجينية . وفي هذا التكنيك الحديث HPTLC يتم التطوير مسافة بسيطة (٢–٥سم) في زمن وجيز جداً (١–٩ دقائق) ، ورغم صغر مساحة الرقائق (١٠×١٠سم) فإنها تسع إلى ٣٢ عينة ، وحدود الكشف الكمي عليها

عشرة أضعاف دقة TLC المعتاد ، مع دقة الفصل المتناهي ، وصغر حجم العينة الشديد (٥٠–٢٣٠ نانولتر) . كما استخدمت في TLC مواد حاملة رجعية Reversed (C8, C18) Phase تحتوي الكيل هيدروسيليكون سليكاجيل مهيئة لفصل المواد شديدة القطبية .

رابعاً : أعمدة الكروماتوجرافي Column Chromatography :

وهي وسيلة فصل كروماتوجرافي تعتمد على :

- مادة الادمصاص .
- المذيب المستخدم .
- طول ومساحة مقطع العمود .
- نوع وتركيز العينة .
- درجة الحرارة (زيادتها تقلل الادمصاص) .

فلو كانت كمية مادة الادمصاص واحدة مع اختلاف أطوال الأعمدة ، فيكون العمود الأطول فصله أحسن ، ولو تساوت الأعمدة في الطول فتتناسب قوة الفصل لمكونات العينة مع مساحة مقطع العمود ، أي يزيد الفصل بزيادة مساحة مقطع العمود .

وتقسم أوساط الادمصاص الصلبة إلي مجاميع قطبية (أكاسيد المعادن كالالومينا والسليكاجيل كمواد بولارية ذات روابط هيدروجينية ممصة لذرات الأوكسجين ومجاميع الهيدروكسيل) وغير قطبية (كالفحم) ، وعليه فالمواد البولارية تمسك على المواد المدمصة بعكس المواد غير البولارية .

وكل مادة من مكونات الخليط تتفاعل بمفردها مع مادة الادمصاص والمذيب بما يسمى معامل التوزيع بين الوسطين (الثابت والمتحرك أي المدمص والمذيب) فلكل مكون من الخليط معامل توزيع خاص .

بانخفاض درجة الحرارة تقل الحركة الجزيئية للمركبات فتزيد القدرة على الادمصاص.

وتستخدم طرق الفصل المختلفة (ادمصاص ـ تجزئ ـ تبادل أيونات) في الأعمدة الكروماتوجرافية ، وهي تتطلب نفس متطلبات الكروماتوجرافي الورقي ورقيق الطبقة (انتخاب المادة الحاملة ـ انتخاب المذيب ـ وضع العينة ـ إظهار الكروماتوجرام ـ التعرف على المناطق واستخلاصها) ، فيستخدم كمادة حاملة كثيراً جداً أكسيد الألومنيوم ، كما قد يستخدم الفحم وكربونات الكالسيوم وأكسيد الماغنسيوم والسليكاجيل ، السليت وغيرها كثيراً ، فتملأ بها أعمدة من الزجاج أو البلاستك بأقطار وأطوال مختلفة ، وقد توضع جافة أو معلقة في مذيب إذا كانت الأعمدة ضيقة .

ولانتظام البقع يحتفظ بسطح المادة الحاملة مستوياً بتغطيته بورقة ترشيح أو قطن ، وكذلك يكون في قاع العمود ورق ترشيح أو قطن أو صوف زجاجي لمنع سقوط المادة الحاملة ، وبعد التحميض يمكن إظهاره لتمييز المناطق إذا كانت ملونة ، أو قد يفحص تحت الأشعة فوق البنفسجية ، أو باستعمال أدلة ملونة أو باستخلاص المناطق المنفصلة

وتقديرها بتفاعلات مناسبة .

تستخدم أعمدة الكروماتوجرافي في تقدير صبغات النباتات والأحماض الأمينية والسكريات والقلويدات والستيرولات والأحماض الدهنية ، وكثير من المركبات .

وكما يستخدم العمود للتحليل النوعي والكمي (كما في TLC) فإنه يستخدم كذلك (كما في TLC) في التنقية قبل التقدير الكمي .

فالكروماتوجرافي السائل Liquid Chromatography تستعمل فيه أعمدة الكروماتوجرافي المختلفة الأطوال والأقطار والمواد الحاملة ، ومنها ما هو معبأ جاهز (بلاستك أو صلب) أو يعبأ يدويًا .

وينقسم الكروماتوجرافي السائل لما يأتي :

١ ـ سائل صلب Liquid-Solid (LSC) ، وهو كروماتوجرافي ادمصاصي ، ذو سطوح نشطة غالبًا من سيليكاجيل ، أكسيد ألومنيوم ، سليكات ماغنسيوم ، ويستخدم معها مذيبات للتطوير وهي محاليل غير قطبية أو متوسطة القطبية .

٢ ـ سائل سائل Liquid-Liquid (LLC) ، وفيه تستخدم مواد مختلفة الذائبية ، وعليه تستخدم اختلاف توزيعها بين الوسطين السائلين للفصل ، وتتوقف قطبية مادة التطوير على العينة ، والوسط الثابت هنا مائي والمتحرك أقل قطبية .

٣ ـ رجعي Reversed Phase (RP) كنظام ادمصاص ، يكون الطور الساكن محبا للدهن، بينما الطور المتحرك محبا للماء ، وفيه تستخدم وسائل سير مائية ، والطور الساكن سليكا جيل مغطاة بالكيل هيدروسيليكون (C_{18} ، C_8) .

٤ ـ تبادل أيوني .

٥ ـ تخلل الجيل Gel Permeation (GPC) .

وفي الواقع العملي يحدد حجم الكروماتوجرام (المتوقف على الطور المتحرك Mobile Phase) بوقت الامتصاص (ظهور المنحنى) ، سرعة التدفق للطور المتحرك ، معامل التجزيء ومعاملات الكفاءة ، ويتوقف ارتفاع درجة الفصل النظري على سرعة الطور المتحرك ، متوسط حجم حبيبات (قطرها) الوسط الثابت في العمود .

وعند فصل مكونات مركب يهمنا معرفة وقت الفصل اللازم لبلوغ حل أو فصل المركب المعين ، ويجب أن يكون زمن الفصل كبيراً بقدر الإمكان .

ومن العوامل المؤثرة على نتائج التحليل الكروماتوجرافي السائل ما يلي :

١ ـ قصر طول العمود يزيد سرعة خروج المركب المنفصل .

٢ ـ بزيادة سرعة مرور المذيب Flow Rate يرتفع طول المنحنيات وتتداخل معاً .

٣ ـ بزيادة قطبية المذيب يتأخر ظهور منحنى المركب المنفصل .

٤ ـ الحرارة العالية تزيد سرعة الفصل وخروج المركبات لكن زيادتها عن ٧٠–٨٠ْم تحدث تضليلاً في الـ Detector .

٥ ـ صغر حجم حبيبات المادة المالئة للعمود تزيد سرعة خروج المركبات .

وفي هذا التكنيك تم تطور كبير ، واستخدام التكنولوجيا أدى لاستحداث الكروماتوجرافي السائل عالي الأداء (أو عالي الضغط) High Pressure (performance) Liquid Chromatography (HPLC) ، وهو سريع الأداء ، دقيق النتائج ، يلزمه حجم ضئيل جداً من العينة ، ويسير المذيب في العمود تحت ضغط .

ويتم التعرف على منحنى المركبات المطلوبة بالمقارنة بمحلول قياسي خارجي External Standard أو داخلي Internal Standard ، أو باستخدام النظائر المشعة والاستدلال على الإشعاع ، أو بتمييز المركب بإمراره على Detector لتقديره ضوئياً أو إسبكتروفوتومتريا أو فلورمتريا ، أو الحصول على جزء Fraction من المركب من HPLC وتقدير تركيزه كيمائياً أو بتكنيك آخر كروماتوجرافيا أو إنزيميا أو بعمل مشتقات Derivation .

وقد يتصل هذا الجهاز بأكثر من عمود وأكثر من Detector ، فيمكن أن يتصل عمود بطلمبة بكاشف فوق بنفسجي UV-Detector ، وكذلك بعمود ثانٍ بطلمبة ثانية بكاشف فلورمتري .

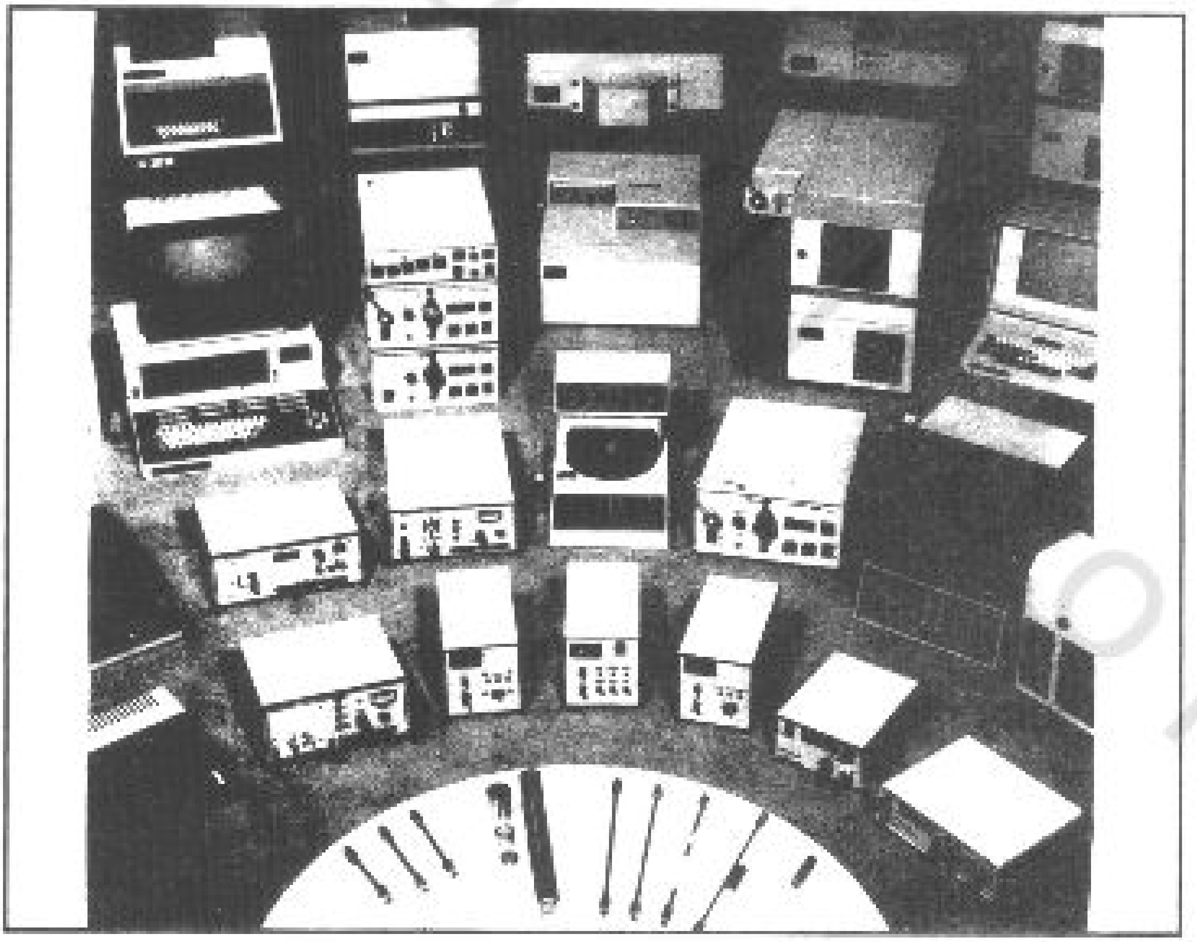
كما يتصل به رسام للمنحنيات بحاسب لمساحات المنحنيات ، وكلها ذاتية الأداء إليكترونية التركيب ، وقد استخدم في فصل الڤيتامينات والأحماض الأمينية والصبغات والمبيدات والسموم الفطرية وغيرها كثيرا جداً .

والكروماتوجرافي الغازي Gas Chromatography وهو يختلف عن السائل في إمكانية تقدير المركبات منخفضة الوزن الجزيئي عليه ، بينما الكروماتوجراف السائل يختص بالمركبات ذات الوزن الجزيئي الأعلى ، والكروماتوجرافي الغازي يقدر حجوماً بسيطة جداً من العينة والتي تركيزها في حدود ١٠ ميكروجرام حتى ٥٠٠مجم ؛ ولذلك يلزمه سرنجة ميكرومترية (كما في HPLC لكن أدق) إذ تحقن حجوماً في حدود ١–٣ ميكرولتر خلال سدادة مطاط في أعلى العمود ، ويجب تحويل المركبات أولاً إلى صور صالحة لتحويلها لغازات (بالأستلة أو الأسترة وغيرها لعمل مشتقات طيارة) ، وهو يعتمد على اختلاف معاملات توزيع المركبات ما بين الوسط المتحرك (الغازي) والثابت (صلباً كان أو سائلا) . ويملأ العمود بجزيئات منتظمة الحجم ، ذات مسطحات عالية النوعية وثابتة في صورة مسحوق ساكن عديم الحركة سبق معاملته بسائل (الطور الساكن) عديم التطاير تحت ظروف التحليل متصاعدة الحرارة . وكما تتوقف جودة الفصل على نوع العمود

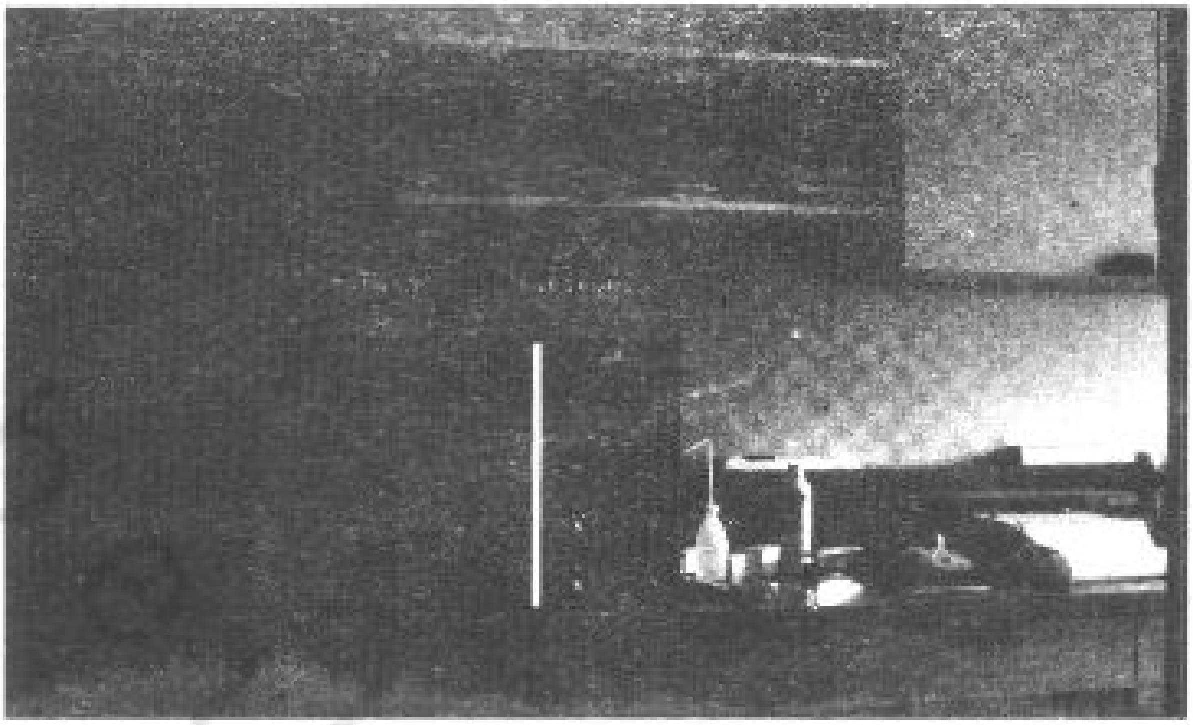
وطوله فتتوقف كذلك على حجم العينة وضغط الغاز . ويتم التقدير الكمي بمرور العينة المتطايرة على كاشف Detector .

والطور المتحرك هو الغاز الخامل سواء نيتروجين أو ثاني أكسيد كربون أو هيدروجين أو هليوم أو أرجون على حرارة غالبا ٢٠٠ م . وبحقن العينة ومرورها مع الغاز يحدث اتزان ما بينها وبين الطور الساكن والمتحرك ، وتمر على الكاشف فالمسجل . ويتوقف نوع الغاز الخامل على حسب نوع الكاشف . والأعمدة يتراوح طولهاما بين ١,٥ – ٤,٥ م وقطرها ٢ – ١٠ م وهي صلب أو زجاج أو نيكل مع نحاس . وتملأ بالمادة المدمصة أو المجزئة كالألمونيا أو الكربون المنشط والسليكاجيل ، وتحمل سائلاً غير متطاير كزيت السليكون أو البولي إثيلين جليكول . أما الكاشف فقد يكون مقدراً للحرارة أو للتأين أو للكتلة أو كهروضوئيا للهب أو اسبكتروفوتومتريا للامتصاص أو للتأين للمواد المشعة .

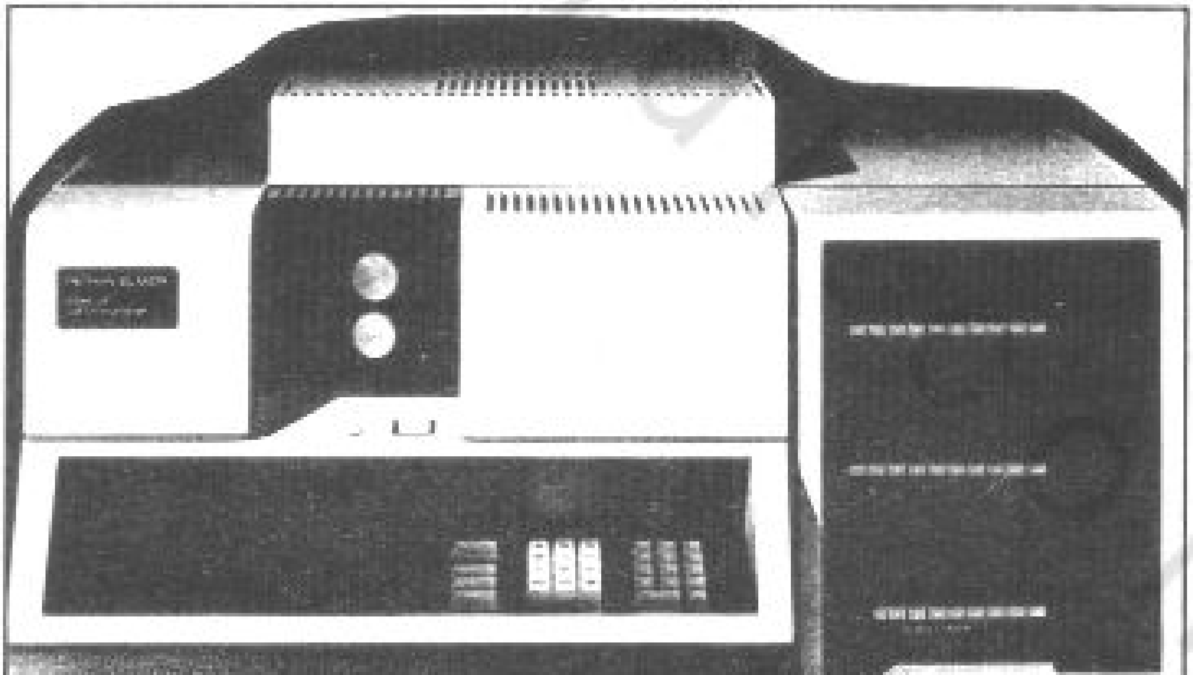
وتتم المقارنة باستخدام محلول قياسي داخلي أو خارجي لحساب تركيز المركبات المدروسة من عقاقير ومضادات حيوية ومبيدات وأحماض دهنية وسموم مختلفة وأحماض بولية وكحولات وأحماض عضوية وغيرها كثير جداً . وهو الآن متطور جدا ويعمل باللمس ؛ لأنه مبرمج إلكترونياً .



(شكل ١٦) نماذج لأجهزة الكروماتوجرافي السائل



(شكل ١٧) كروماتوجرافي غازي



(شكل ١٨) كروماتوجرافي غازي

Obeikandi.com

ويمكن الرجوع إلى المراجع التالية لزيادة الإيضاح :

ـ مصطفى صفوت محمد (وآخرون) : كيمياء وتحليل الأغذية ـ دار المعارف بالأسكندرية (١٩٦٣) .

ـ مصطفى مرسى (وآخرون) : أساسيات البحوث الزراعية ـ مكتبة الأنجلو المصرية (١٩٦٨) .

ـ محمد ممتاز الجندى : التحليل الكروماتوجرافى ـ دار المعارف بمصر (١٩٨٧) .

_ Brown , P. R. (1973) High Pressure Liquid Chromatography . Academic Press , N. y .

- Camag product information No . 251 - 401 , Tl 80 .

- Cassidy , H. G. (1957) Fundamental of Chromatography . Interscience Publ., N. Y .

_ Clatten , R. & Clatten, A. (1962) Hochspannung Elekrophorese . G. Thiee, Stuttgart.

_ Desaga Catalogue (1978) Thin Layer Chromatography electrophoresis Labratory Technique, Heidelberg .

_ 140, 142, 150, 151, 154, 161, 171, 173, 188, 190, 191, 206, &207. Desaga product information No. 112, 135.

- Dickes, G. J. & Nicholas, P. V. (1978) Gas chromatography in food analysis, Butterworthes, London .

- Duran (1980) Jena glas Schott, Laboratory glass prospectus , No. 5164, mainz .

- Englhardt, H. (1977) Hochdruckflussigkeitschromatographie . 2. Auflage, Springer Verlag, Berlin & N . y .

- Haack, P. (1978) Technik prospectus, Wien.

- Heftmam, E. (1967) Chromatography, 2nd Ed., Van Nostrand Reinhold Co. N.y.

- Holm, D. J. & Peck , H. (1993) Analytical Biochemistry , 2 nd Ed., Longman , Printed in Singapore .

- Huber, J. F. K. (1975) Z. Anal. Chem., 277: 341 .

- Huber , J. F. K. (1977) Einfuhrung in die moderne Saulen - Flussigkeitschromatographie . Seminar , Wien.

- Kiepe Electric (1980) Sekunden - Thermometer (15 - 9) Wien .

- Kufner, G. & Schlegel, H. (1979) J. Chromatogr., 169 : 1410 .

- Less, R. (1975) Food Analysis , 3 rd Ed ., Leanard Hill Books, London .
- Macherey - Nagel + Co. (1974) Paper, Column, Thin Layer, Gas chromatography, Duren, Germany .
- Macherey - Nagel + Co., (1981) PH - Indecator paper, test papers, filter papers, Visocolor test kits and filter aids. Duren , Germany .
- Merck , E. (1974) Klinisches Labor , 12 . Auflage , Merck, Darmst adt .
- Mettler prespectus (1979) Zurich .
- Oser , B. L. (1979) Hawkes physiological chemistry. 14th Ed., Tata Mc Graw _ Hill, New Delhi .
- Pharmacia Fine Chemicals (1981) the pharmacia Immunoelectrophoresis System, Sweden .
- Pierce, W. C. & Haenisch, L. (1955) Quantitative Analysis, 3rd Ed. , Gohan Wiley & Sons, N. Y .
- Ribeiro, L. P. etal. (1961) Paper electrophoresis. Elsevier, Amsterdam .
- Rotronic AG (1980) Feuchte - U. Temperatur - Messung, Zurich .
- Sartorius (1981) Das superbreite Waageprogramm, Gottingen .
- Stahl, E. (1967) Dunnschicht - Chromatographie. 2. Auflage, Springer - Verlag , Berlin .
- Varley , H. (1978) Practical Clinical Biochemistry . 4 th Ed., Arnold - Heinemann , India .
- Wahel International LTD (1990) Wahl heat spy Katalog Nr. W-101 , California .
- Woelm Pharma (1985) TLC - Product Information No. Al 10, 17, Germany .